

Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten
der Freien Universität Berlin
im Städt. Rudolf-Virchow-Krankenhaus
Direktor: Prof. Dr. med. G. Stüttgen

Wechselseitige Beeinflussung der Penetration zweier Steroide in die menschliche Haut

Untersuchung zur Penetrationskinetik tritium-
markierter Substanzen aus verschiedenen
Salbengrundlagen in vitro

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Wolf-Dieter Hoffmann
aus Berlin

1976

Abt. der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten
der Freien Universität Berlin
in der Städt. Huden-Krankenklinik
Direktor: Prof. Dr. med. H. Hoffmann

Wechselseitige Beeinflussung der Penetration zweier Steroide in die menschliche Haut

Untersuchung zur Penetration von
hydrophilen Substanzen in verschiedene

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Thema: Dissertation
an der Freien Universität Berlin
an der Medizinischen Fakultät
am Institut für Dermatologie

verlegt von
Woll-Dietz Verlag
in Berlin

Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten
der Freien Universität Berlin
im Städt. Rudolf-Virchow-Krankenhaus
Direktor: Prof. Dr. med. G. Stüttgen

Wechselseitige Beeinflussung der Penetration zweier Steroide in die menschliche Haut

Untersuchung zur Penetrationskinetik tritium-
markierter Substanzen aus verschiedenen
Salbengrundlagen in vitro



Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Wolf-Dieter Hoffmann
aus Berlin

Referent: Prof. Dr. rer. nat. Hans Schaefer

Korreferent: Prof. Dr. med. E. Scharz



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am : 20.1.1976

Mein besonderer Dank gebührt Herrn Prof.Dr.rer.nat. H. Schaefer
und Herrn Priv.-Doz.Dr.med. A. Zesch, die durch zahlreiche
anregende Gespräche zum Gelingen der Arbeit wesentlich beitrugen.

Berlin, den 24. März 1975

Wolf-Dieter Hoffmann

Inhaltsverzeichnis

<u>Einleitung</u>	S. 7
<u>Material und Methodik</u>	12
A. Galenische Grundlagen	13
B. Excidierte menschliche Haut	"
C. Salbenmarkierung	"
1) 4-Chlortestosteronacetat	14
2) Fluorofomylon	"
3) H^3 markiertes 4-Chlortestosteronacetat mit Fluorofomylon	"
4) H^3 markiertes Fluorofomylon mit 4-Chlortestosteronacetat	"
D. Vorbehandlung der Haut zur Penetration	"
E. Die Penetration	15
1) Aufbau der Kammern	"
2) Temperierung der Kammern	"
3) Vorbereitung der Kammer zur Penetration	16
4) Penetrationsvorgang	"
F. Aufarbeitung der Haut	17
1) Reagenzien	"
2) Arbeitsgang	18
a. Hornschicht	"
b. Epidermis und Cutis	19
c. Penetrationskammerwasser	"
d. Wattebäusche	"
G. Aktivitätsmessung	20
H. Bestimmung der am Tesafilm anhaftenden Gewebemenge	"
I. Versuch zur Bilanzierung des Aktivitätsverbleibs	21
K. Verteilungskoeffizient	22
1) Reagenzien	"
2) Arbeitsgang	"

L. Umrechnung der Meßwerte	S. 23
1) in Prozent der aufgetragenen Menge	"
2) in Absolutkonzentrationen in cm^3 Hautschicht	24
3) in molarer Konzentration je Hautschicht	28
<u>Ergebnisse</u>	29
A. Penetration in die Hornschicht	"
1) Prozentwerte der insgesamt wiedergefundenen Menge	"
2) Prozentwerte der aufgetragenen Menge, absolute und molare Konzentrationen	30
B. Penetration in die Epidermis und Cutis	31
1) Prozentwerte der insgesamt wiedergefundenen Menge	"
2) Prozentwerte der aufgetragenen Menge, absolute und molare Konzentrationen	33
C. Vehikelabhängige Substanzverteilung in Hornschicht (a), Epidermis (b) und Cutis (c).	34
I. 4-Chlortestosteronacetat	35
1) Weiße Vaseline DAB 7	"
a. Hornschicht	"
b. und c. Epidermis und Cutis	"
2) Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe DAB 7	36
a. Hornschicht	"
b. Epidermis	"
c. Cutis	"
3) Wasserhaltige hydrophile Salbe DAB 7	37
a. Hornschicht	"
b. Epidermis	"
c. Cutis	"

4) Polyäthylenglykosalbe DAB 7	S. 37
a. Hornschicht	"
b. Epidermis	38
c. Cutis	"
II. H ³ -markiertes 4-Chlortestosteronacetat mit Fluorofomylon	"
1) Weiße Vaseline DAB 7	"
a. Hornschicht	"
b. und c. Epidermis und Cutis	"
2) Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe DAB 7	39
a. Hornschicht	"
b. und c. Epidermis und Cutis	"
3) Wasserhaltige hydrophile Salbe DAB 7	"
a. Hornschicht	"
b. und c. Epidermis und Cutis	40
4) Polyäthylenglykosalbe DAB 7	"
a. Hornschicht	"
b. und c. Epidermis und Cutis	"
III. Fluorofomylon	41
1) Weiße Vaseline DAB 7	"
a. Hornschicht	"
b. und c. Epidermis und Cutis	"
2) Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe DAB 7	"
a. Hornschicht	"
b. und c. Epidermis und Cutis	"
3) Wasserhaltige hydrophile Salbe DAB 7	"
a. Hornschicht	"
b. und c. Epidermis und Cutis	42

4) Polyäthylenglykosalbe DAB 7	S. 42
a. Hornschicht	"
b. und c. Epidermis und Cutis	"
IV. H^3 -markiertes Fluorofornylon mit 4-Chlortestosteronacetatzusatz	"
1) Weiße Vaseline DAB 7	"
a. Hornschicht	"
b. und c. Epidermis und Cutis	43
2) Wasserhaltige Wollwachsalkoholalbe DAB 7	"
a. Hornschicht	"
b. und c. Epidermis und Cutis	"
3) Wasserhaltige hydrophile Salbe DAB 7	44
a. Hornschicht	"
b. und c. Epidermis und Cutis	"
4) Polyäthylenglykosalbe DAB 7	"
a. Hornschicht	"
b. und c. Epidermis und Cutis	45
D. Vehikelabhängige Penetrationskinetik in Abhängigkeit von der Steigung der Hornschichtverteilungskurven der Substanzen	"
E. Vehikelabhängige Penetrationskinetik in Epidermis und Cutis	46
F. Bestimmung der anhaftenden Gewebemenge	49
1) Absolute Aktivität ($dpm \cdot cm^{-2}$) pro Abriß	"
2) Verhalten der Hornschichtlagen	50
G. Bilanzierung des Aktivitätsverbleibes	51
H. Verteilungskoeffizient	"
<u>Diskussion der Ergebnisse</u>	52
<u>Zusammenfassung</u>	61

Einleitung

Unter Penetration versteht man das Eindringen einer Substanz in die Hornschicht, Epidermis und Cutis, ohne daß eine Aufnahme in die Blut- und Lymphgefäße erfolgt. Wird hingegen die Substanz von den Blut- und Lymphgefäßen resorbiert, so wird von Permeation oder perkutaner Resorption gesprochen.

Die Permeation von Medikamenten durch die Haut ist eine Funktion physikalisch-chemischer sowie biologischer Faktoren. Dabei spielt der Zustand der Haut eine entscheidende Rolle. Erhöhte Hautdurchblutung, follikelreiche Haut oder Entfernung der Hornschicht erhöhen die Rate der perkutanen Resorption stark. Hydratation des stratum comeums (Okklusivverband!), Konzentration und Löslichkeitscharakteristika der eindringenden Substanz sowie die Affinität der Grundlage zur Wirksubstanz sind weitere wichtige Stellgrößen der Permeation.

Lokal applizierte Substanzen müssen - um zum Ort der Wirkung zu gelangen - verschiedene Widerstände in der Haut überwinden:

Die leblose Hornschicht als oberste Schutzschicht der Haut mit ihrem Talg- und Hautfettfilm und den Lagen von Keratinlamellen, die verschieden dicht angeordnet sind, stellt für die einzudringende Substanz das erste und stärkste Hindernis dar. Auf dem weiteren Weg durch die Haut stellen sich dem Externum die vitalen Zellschichten der Epidermis, die epidermale-dermale Grenzmembran, die Grundsubstanz der Cutis mit deren Fasersystemen und schließlich die Gefäßwände der Blut- und Lymphgefäße entgegen.

Um Dermatosen optimal zu behandeln, muß das Medikament in ausreichender Konzentration an den Wirkungsort herangeführt werden, wo der pathologische Prozeß abläuft. Die Bedingungen, die von einem Medikament zur Behandlung

von Erkrankungen in der Epidermis (Ekzeme, Dermatitis) gefordert werden müßten, wären: hohe Anreicherung in der Hornschicht, bei gleichzeitiger Affinität zum epidermalen Eiweiß und gutem Abbau bzw. Metabolisierung, um Seitenwirkungen einzuschränken (11). Ein in der Cutis wirksames Therapeutikum sollte dagegen möglichst keine Metabolisierung in der Epidermis, aber deutliche Affinität zu cutanen Strukturen besitzen.

Von verschiedenen Forschergruppen wurden in den letzten Jahren eine Reihe von Untersuchungen, teils *in vitro*, teils *in vivo*, im Tierversuch und beim Menschen angestellt, um die Penetration und perkutane Resorption lokal applizierter Arzneimittel in Bezug auf die Haut und den Organismus zu verfolgen. Hierbei erwiesen sich Methoden, die radiomarkierte Substanzen benutzen, als die aussagekräftigsten. Das Liquid-Szintillations-Zählverfahren ermöglicht durch die Aktivitätsmessungen weicher β -Strahlen bei geringer Belastung für den Probanden, einen exakten Nachweis über den Verbleib einer auf die Haut aufgetragenen radiomarkierten Substanz durch Bestimmung des Aktivitätsgehaltes in der Haut, dem Organismus (Versuchstier) und den Exkrementen.

In den letzten Jahren wurden unter anderem diesbezügliche Untersuchungen in der einschlägigen Literatur mitgeteilt:

BRODE (2) vergleicht in Anlehnung an das Britische Arzneibuch die Resorption von auf Rattenhaut aufgetragenen ^{14}C -Fluocinolon-Acetonid aus einer Öl/Wasser Emulsion, Wasser/Öl Emulsion, weißes Weichparaffin und Polyäthylenglykosalbe. Die Ausscheidung der Aktivität wurde in der Galle verfolgt und die Resorptionsquote mit derjenigen aus einer aethanolischen Lösung als Vehikel verglichen.

KOLB und SCHULZE (6) führten pharmakokinetische Untersuchungen nach lokaler Applikation von radiomarkiertem Aethinyloestradiol, Testosteron,

Progesteron, Norethisteron, δ^1 -Norgestrel und 17- α -Hydroxyprogesteroncapronat, die jeweils in einer Wasser/Öl Emulsion, einer Öl/Wasser Emulsion und einer Fettgrundlage inkorporiert waren, an der Haut von Meerschweinchen und haarlosen Mäusen durch und bestimmten die wiedergefundene Aktivitätsmenge nach verschiedenen Zeiten in der Haut.

FELDMANN und MAIBACH (3) untersuchten die Penetration organischer ^{14}C -markierter Verbindungen, indem sie die in Aceton gelösten Substanzen auf den menschlichen Unterarm brachten und Geschwindigkeit und Menge der Resorption alle 12 Stunden, 5 Tage lang, durch Messungen von ^{14}C -Urin bestimmt hatten.

WINKLER (14) trug markiertes Fluocortolon und Fluocortoloncapronat in jeweils einer Wasser/Öl Emulsion und einer Fettsalbengrundlage auf Patientenhaut auf und bestimmte in Tagesabständen die im Blut, Harn und Stuhl wiedergefundene Aktivitätsmenge.

Eine wesentliche Schwierigkeit bei derartigen Untersuchungen liegt darin, den physiologischen Gegebenheiten der Haut sowie den pharmakologischen und therapeutischen Gegebenheiten eines Medikamentes möglichst nahezukommen. Es müssen daher Untersuchungen unter solchen Bedingungen angestellt werden, daß anschließend relevante Rückschlüsse auf die Therapie zu ziehen sind. So ist zum Beispiel zu erwarten, daß die physikalisch-chemischen Eigenschaften eines Pharmakons mit denen einer galenischen Grundlage interferieren. Durch unterschiedliche Löslichkeiten in der wässrigen bzw. öligen Phase einer Grundlage kann die Abgabe einer Wirksubstanz an eine weitere Phase wesentlich beeinflusst werden. Des weiteren fragt sich, ob ein mehrphasiges System, beispielsweise eine Salbengrundlage, einen Einfluß auf die Konzentrationen in verschiedenen Hautschichten haben kann. Da der-

artige Fragestellungen es stets mit mindestens drei Phasen - einer wässrigen, einer fettartigen und einer festen Phase - im Gewebe zu tun haben, sind sie theoretisch nicht zu beantworten, sondern müssen durch entsprechend differenzierte Untersuchungsmethoden geprüft werden.

In dieser Arbeit werden möglichst viele Faktoren, z.B. verschiedene Salbengrundlagen und Penetrationszeiten, miteinbezogen. Wegen der unterschiedlich herrschenden physikalisch-chemischen Faktoren sollte bei der Betrachtung der penetrationskinetischen Verhältnisse einer Substanz nicht allein die Wirkung des Medikaments auf die Haut *in toto*, sondern die Wirkung der Substanz auf die einzelnen Hautschichten (12,13) untersucht werden.

Grundsätzlich sollten sich solche Untersuchungen an den in der Therapie gebräuchlichen, jedoch ungemischten Grundlagen orientieren, also reine Wasser/Öl, Öl/Wasser Emulsionen oder Einphasensalben wie Vaseline oder Polyäthylenglykosalbe. Alkoholische Lösungen eignen sich zwar besonders gut als Träger für experimentelle Untersuchungen, spielen aber für therapeutische Belange eine untergeordnete Rolle. Ebenso ist der Gebrauch von Aceton als Vehikel in der Praxis meist nicht möglich.

Ein weiterer entscheidender Faktor ist die sachgemäße Dosierung des Therapeutikums in der Salbe. Die pharmakologisch hochaktiven Steroide können bei exzessiver lokaler Applikation zu systemischen Wirkungen führen. So sind nach monatelanger örtlicher Verabreichung schon von Hydrocortison eine Atrophie der Kollagenfasern, sowie ein Verschwinden der Mucopolysaccharide beschrieben worden (4). Durch den Gebrauch neuerer fluorierter Steroide, besonders bei Anwendung der Okklusionstechnik, sind Verschiebungen in der Plasmakonzentration sowie Urinausscheidung an 17-Keto- und 17-Hydroxysteroiden, als auch eine Veränderung der Elektrolytausscheidung im Harn erwähnt worden (4). Pharmakologische Daten aus Tierexperimenten sowie phar-

makologisch-klinische Untersuchungen, wie z.B. der McKenzie-Test (5), lassen in Bezug auf die Quantität einer Wirksubstanz im Gewebe nur bedingt Aussagen zu, da stets die Summe aus Quantität und Wirkungsqualität erfaßt werden wird. Erst die Kombination der Pharmakokinetik mit der Kinetik des Stofftransports ermöglicht genaue Aussagen über Dosisart und Dosiswirkkonzentration.

In der vorliegenden Arbeit soll nun das penetrationskinetische Verhalten zweier Steroide in 4 gebräuchlichen galenischen Zubereitungen in vitro untersucht werden. Als Steroide gelangen das 4-Chlortestosteronacetat (Abb. 1), ein in 4-Stellung halogener Abkömmling des Testosterons, wobei die anabole Aktivität verstärkt und die androgene Wirkung zurückgedrängt wurde, und das Fluorofomylon (Abb. II), ein stark antiphlogistisch wirkendes Steroid zur Anwendung.

Gemäß den voranstehenden Überlegungen wurden die Fragestellungen in folgende Gruppen eingeteilt:

1. Wie verhält sich 4-Chlortestosteronacetat bei der Penetration durch die Haut in Abhängigkeit von verschiedenen Salbengrundlagen?
2. Welches zeitliche Bild in Bezug auf die Penetrationsgeschwindigkeit ergibt sich für jede einzelne dieser Salbengrundlagen?
3. Welche Unterschiede ergeben sich, wenn anstatt 4-Chlortestosteronacetat Fluorofomylon in die gleichen Grundlagen eingearbeitet wird?
4. Beeinflussen sich zwei Steroide wie 4-Chlortestosteronacetat und Fluorofomylon gegenseitig in ihrer Penetration?
 - a) Welche Penetrationskinetik ergibt sich für 4-Chlortestosteronacetat bei Zugabe von Fluorofomylon zur Grundlage?

- b) Wie beeinflusst 4-Chlortestosteronacetat die Penetration von Fluoromylon?
- c) Ergeben sich durch derartige Beeinflussungen Unterschiede in den Penetrationskinetiken in Bezug auf die Zeit und Salbengrundlage?

Material und Methodik

A. Galenische Grundlagen

Mit den zu untersuchenden Substanzen wurden für die lokale Applikation verschiedene Zubereitungen hergestellt. Als Salbengrundlage wurden je ein typischer Vertreter der derzeitig gebräuchlichsten Grundlagen verwendet. In Anlehnung an SARKANY (9) wurden folgende Salben des Deutschen Arzneibuches (DAB 7) (1) benutzt:

1. Weisse Vaseline

Zusammensetzung: Gemisch gereinigter, gesättigter, gebleichter Kohlenwasserstoffe

2. Eine W/Ö Emulsion (wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe)

Zusammensetzung: Wollwachsalkoholsalbe	1 Teil
Wasser	1 Teil
(Wollwachsalkoholsalbe:	
Wollwachsalkohole	6,0 Teile
Cetylstearylalkohole	0,5 Teile
weißes Vaseline	93,5 Teile)

3. Eine Ö/W Emulsion (wasserhaltige hydrophile Salbe)

Zusammensetzung: Hydrophile Salbe	30 Teile
Wasser	70 Teile

(Hydrophile Salbe:

Emulgierender Cetylstearyl-

alkohol 30 Teile

Dickflüssiges Paraffin 35 Teile

Weißes Vaseline 35 Teile)

4. Ein Polyäthylenglykolvermischung (Polyäthylenglykolvermischung)

Zusammensetzung: Polyäthylenglykol 300 1 Teil

Polyäthylenglykol 1500 1 Teil

Von jeder dieser Grundlagen wurden:

1. eine 0,1 % 4-Chlortestosteronacetatsalbe,
2. eine 0,1 % Fluoroformylonsalbe
3. und jeweils eine Salbe hergestellt, die sowohl 0,1 % Fluoroformylon als auch 0,1 % 4-Chlortestosteron enthielt.

B. Excidierte menschliche Haut

Zu den Versuchen wurde frische Haut (mammar) von Operationspräparaten sorgfältig an der Subcutisgrenze abgetrennt und in für die Penetrationszwecke geeignete Größe zugeschnitten, in Aluminiumfolie verpackt und kurzzeitig bei -35°C gelagert. Zu den Versuchen wurde nur intakte gesunde Haut herangezogen, die frei von jeglichen pathologischen Veränderungen war.

C. Salbenmarkierung

- 1) Zur Bestimmung des Penetrationsverhaltens von 4-Chlortestosteronacetat wurde tritiummarkiertes 4-Chlortestosteronacetat mit Aceton verdünnt und mittels einer Mikropipette (Modell Eppendorf) soviel auf einen Objektträger gegeben, daß auf jedem sich ca. $5\text{ }\mu\text{Ci}$ befanden. Nach Verdünnen des Acetons wurden 30 mg der jeweiligen 0,1 % unmarkierten 4-

Chlortestosteronacetatsalbe auf den Objektträger gebracht und 5 - 10 Minuten lang mit der markierten Substanz mit Hilfe eines Metallspatels gut vermischt. Die jetzt radiomarkierte Salbe wurde auf einen gewogenen Glasspatel übertragen. Danach erfolgte eine genaue Wägung (Modell: Sartorius Waage) des Glasspatels mit der markierten Salbe. Aus der Gewichts Differenz ergibt sich die auf den Glasspatel übertragene markierte Salbenmenge.

- 2) Entsprechendes gilt für die Zubereitungen zur Bestimmung des Penetrationsverhaltens von Fluoroformylon.
- 3) Um den Einfluß des Fluoroformylons auf die Penetration von 4-Chlortestosteronacetat zu ermitteln, wurde H^3 -markiertes 4-Chlortestosteronacetat in 30 mg der unmarkierten 0,1 %igen Fluoroformylon/4-Chlortestosteronacetatsalbe in der jeweiligen Salbengrundlage eingearbeitet.
- 4) Umgekehrt wurde markiertes Fluoroformylon bei der Bestimmung des Einflusses von 4-Chlortestosteronacetat auf die Penetration von Fluoroformylon benutzt. Tritiummarkiertes Fluoroformylon wurde in diesem Falle mit 30 mg der verschiedenen unmarkierten 0,1 % Fluoroformylon/4-Chlortestosteronacetatsalben verarbeitet.

D. Vorbehandlung der Haut zur Penetration

Für die Versuche wird die kurzfristig aufgetaute Haut mit einem Leinentuch und Wasser gut gereinigt. Mit einem Stempel wird eine 7 cm^2 große kreisrunde Fläche gekennzeichnet und mit Hilfe des Glasspatels eine der oben angefertigten markierten Salben aufgetragen und 90 sec lang auf der Haut verrieben.

Zur E_r -mittlung der genauen Salbenmenge, die sich auf der Haut befindet, wird der Glasspatel nach der Salbenauftragung erneut gewogen. Die Gewichts-differenz des Glasspatels vor und nach der Salbenauftragung ergibt die tatsächliche Menge markierter Salbe, die sich auf der Haut befindet und die Möglichkeit zur Penetration hat. Da 30 mg radiomarkierter Salbe idealerweise $5 \mu \text{ Ci}$ ($= 5 \cdot 2,23 \cdot 10^6 \text{ dpm}$) enthalten, besteht eine direkte Proportionalität zwischen Salbenmenge und Aktivitätsgehalt.

E. Die Penetration

1. Aufbau der Kammern

Wie die photographische Abbildung (Abb. III) zeigt, handelt es sich um 4 in Reihe geschalteter Penetrationskammern. Der Aufbau soll am Beispiel einer Kammer geschildert werden (Abb. IV):

Ohne den Glasfortsatz des oberen Kammeranteils miteinzubeziehen, besteht die Kammer aus zwei jeweils 3 cm hohen Glaskörpern (Abb. V), wobei einer den unteren und einer den oberen Kammeranteil darstellt. Der untere Kammeranteil ähnelt einer abgeflachten, doppelwandigen (Abstand zwischen beiden Wänden 1 cm) Halbkugel, deren äußerer Durchmesser 6 cm beträgt. Beide Wände umgeben einen nach oben hin offenen Hohlraum. Die Systemzeichnung (Abb. VI) gibt den Aufbau einer Penetrationskammer in der Seitenansicht wieder. Der obere Kammeranteil ist vom gleichen äußeren Durchmesser wie der untere und zeigt eine leichte zentrische Öffnung, die einen Durchmesser von 4 cm hat und nach oben hin, immer schmaler werdend, in einem Belüftungsrohr endet.

2) Temperierung der Kammern

Die beiden Kammern werden zur Temperierung ständig von warmem Wasser in ihrer Doppelwandung von ca. 1 cm Durchmesser durchströmt. Werden die beiden Kammern auf der einen Seite mit einem Schlauch ver-

bunden, und wird auf der anderen Seite jeweils ein Anschluß zu einer Wasserpumpe hergestellt, so befindet sich das die Kammern durchströmende Wasser in einem ständigen Kreislauf durch dieses Verbundsystem. Die Wasserpumpe, in einem Wasserbad stehend, sorgt für einen kontinuierlichen Fluß des hier durch einen Thermostaten auf 32 °C erwärmten Wassers.

3) Vorbereitung der Kammer zur Penetration

In den offenen Hohlraum der unteren Penetrationskammer werden 17 ml physiologische Kochsalzlösung, das sogenannte Penetrationskammerwasser gefüllt. Die diesen Hohlraum umrahmende Doppelwand wird an ihrer Kontaktstelle zum oberen Kammeranteil mit einer Silikonpaste bestrichen, die später ein Abrutschen der Haut ins Penetrationskammerwasser verhindern soll. Ein Magnetrührer, auf dem die untere Kammer steht, sorgt dafür, daß das Penetrationskammerwasser von einem sich ständig drehenden kunststoffbemantelten Metallstück von 0,7 cm Länge in Bewegung gehalten wird. Ungefähr eine Stunde vor Beginn des Penetrationsversuches werden die Wasserpumpe und der Thermostat eingeschaltet, um die für den Versuch erforderliche Temperatur in den Kammern zu gewährleisten.

4) Penetrationsvorgang

Die mit der radiomarkierten Salbe versehene Haut wird zum eigentlichen Penetrationsvorgang auf den mit Silikonpaste bestrichenen planen Anteil der Doppelwand der unteren Kammer gelegt. Die auf der Haut gekennzeichnete Fläche bedeckt genau die Öffnung des Hohlraumes, der das Penetrationskammerwasser enthält. Die Unterseite der Haut steht im ständigen Kontakt mit dem Penetrationkammerwasser. Ohne die gekennzeichnete und mit Salbe bestrichene Fläche der Haut zu berühren, wird der obere Kammeranteil auf den unteren gesetzt und an diesem mit außen angreifenden Gummilaschen fixiert. Das Belüftungsrohr des oberen Kammeranteils gewährleistet eine konstante Luftzufuhr an die Hautoberfläche. Das ganze System

ähnelt einem Sandwich: Die Haut befindet sich zwischen beiden Teilen der Penetrationskammern.

Der Magnetrührer wird eingeschaltet, und die Temperatur des die Kammern durchströmenden Wassers wird mit Hilfe eines Thermometers im Wasserbad der Pumpe kontrolliert.

Mit Hilfe dieses Versuchsaufbaus wurde das gesamte Arbeitsprogramm durchgeführt, d.h. pro markierter Substanz in jeweils 4 Salbengrundlagen wurden Hautstücke fünf verschiedenen Penetrationszeiten - 10, 30, 100, 300 und 1000 Minuten - unterworfen.

Nach den jeweiligen Penetrationszeiten wird die Haut aus den Penetrationskammern entfernt und zur weiteren Bearbeitung auf einer elastischen Hartgummiunterlage befestigt. Bei der Hartgummiunterlage handelt es sich um einen Korken, auf dem die Haut mit ihrer gekennzeichneten Fläche genau aufliegt. Ohne die Haut einem größeren Zug auszusetzen, wird sie an den Seiten des Korkens mit 8 Stecknadeln fixiert.

F. Aufarbeitung der Haut

1) Reagenzien

Für eine spätere radiometrische Messung werden alle anzufertigenden Proben mit Hyamin^(R), Wasser und einem Szintillationsgemisch versetzt:

a. Szintillationsgemisch: 1,25 l Toluol

1,25 l Dioxan

0,75 l Methanol

260,00 g Naphtalin

16,75 g PPO (2,5-Diphenyloxazol)

0,325 g POPOP (2,2'-p-Phenyl-bis-5-phenyloxazol)

- b. Hyamin^(R) (benzyl dimethyl- [2- [2- [p- (1, 1, 3, 3, -tetramethylbutyl)-
-tolyl oxy] -aethoxy] -aethyl]- ammonium hydroxid)

Es handelt sich um ein höhermolekulares, quaternäres Ammoniumhydroxid zum Auflösen von Gewebe.

2) Arbeitsgang

Die überschüssigen Salbenanteile der auf der Hartgummiunterlage befestigten Haut werden mit einem Wattebausch 3 - 4 mal abgewischt. Diese Wattebäusche werden für eine spätere Bilanzierung des Aktivitätsverbleibs aufbewahrt.

Um zu ermitteln, wieviel markierte Substanz aus der jeweiligen Salbengrundlage in die Haut penetriert, wird wie folgt vorgegangen:

a. Hornschicht

Die Hornschicht wird schichtweise mit Tesafilm^(R) (Firma Beiersdorf) entfernt. Diese von PINKUS (7,8) und WOLF (15) erstmals eingeführte Technik, auch Stripping genannt, ermöglicht ein gleichmäßiges und wenig traumatisierendes Abtragen des stratum corneums bis zum stratum granulosum. Es werden hierzu 8 cm gleichlange Tesafilmstreifen benutzt, die mit 3 cm Breite das behandelte Hautareal überragen. Diese werden leicht auf die Haut angedrückt und dann nach einer Seite weggezogen. Das stratum corneum wird auf diese Weise solange schichtweise abgetragen, bis die Oberfläche der Haut glänzend erscheint, ein Zeichen dafür, daß nun die gesamte Hornschicht entfernt ist. Die einzelnen Tesafilmabrisse werden jeweils in ein Meßfläschchen gegeben, mit 0,3 ml H₂O, 0,1 ml Hyamin und 15 ml Szintillationsgemisch versetzt und 12 Stunden lang im Kühlschrank bei + 7 °C aufbewahrt. Voruntersuchungen ergaben, daß sich die Klebeschicht des Tesafilms im Szintillationsgemisch löst und auch die ungelösten Anteile die Messung der Aktivität nicht störend beeinflussen.

b. Epidermis und Cutis

Aus der von der Hornschicht befreiten Haut wird ein kreisrundes 28 mm^2 großes Hautstück herausgestanzt. Zur weiteren Bearbeitung kommt es auf ein Gefriermikrotom (Firma Jung, Heidelberg), auf dem es mit einem Glasobjektträger ganz leicht zusammengedrückt, plan eingefroren wird. Die Epidermis, deren Stärke zwischen etwa 100 bis 200μ variiert, wird durch die ersten 16 Hautschnitte zu 10μ Dicke in einer vereinfachten Annäherung erfaßt. Der verbleibende Rest - also zum überwiegenden Teil die Cutis - wird in 40μ dicke Schnitte zerlegt. Jeder Schnitt wird in ein Meßgläschen gegeben und mit 0,1 ml Hyamin versetzt. Die verschlossenen Meßgläschen kommen zur besseren Auflösung der Hautschnitte für 6 Stunden in einen Wärmeschrank von $40 - 50^\circ \text{C}$. Danach werden die Meßgläschen mit 0,3 ml H_2O sowie 15 ml des Szintillationsgemisches aufgefüllt. Nun sind die Proben zur Aktivitätsmessung fertig.

c. Das Penetrationskammerwasser

Da sich das Penetrationskammerwasser der Penetrationskammern im ständigen Kontakt mit der unteren Hautseite befand, muß auch hier mit der Existenz von Aktivität gerechnet werden. Dazu werden 0,3 ml des jeweiligen Penetrationskammerwassers mit 0,1 ml Hyamin und 15 ml Szintillationsgemisch zur Aktivitätsmessung aufbereitet.

d. Wattebäusche

In den Wattebäuschen, mit denen die überschüssigen Salbenanteile auf der Haut vor dem "Stripping" entfernt wurden, wird sich selbstverständlich ein Großteil der Aktivität befinden. Zur Erfassung der Aktivität werden die Wattebäusche in einem Gefäß mit 100 ml Toluol versetzt und 2 Stunden stehengelassen, so daß sich die Salbenanteile aus der Watte lösen. Danach werden 1 ml aus

dem Gefäß entnommen und zur Aktivitätsmessung mit 0,1 ml Hyamin und 14 ml des Szintillationsgemisches aufbereitet.

G. Aktivitätsmessung

Die Messung der Aktivität aller angefertigten Probefläschchen erfolgt direkt im Liquid-Szintillation-Counter (LSA) (Modell: Phillips). Zum übersichtlichen Vergleich der Meßwerte werden die vom Szintillation-Counter gemessenen und nach dem Programm errechneten Aktivitäten (dpm) auf 1 cm² Hautoberfläche umgerechnet. Damit soll die wiedergefundene Aktivität in der Hornschicht, Epidermis und Cutis ein direktes Maß für das Eindringen der markierten Substanzen in die entsprechende Hautschicht darstellen.

H. Bestimmung der dem Tesafilm anhaftenden Gewebemenge

12 Stunden vor dem "Stripping" werden die Tesafilmstreifen auf die unverschlossenen Szintillationsfläschchen geklebt und bei Raumtemperatur stehen gelassen, so daß flüchtige Bestandteile der Klebeschicht die Möglichkeit zum Entweichen haben. Unmittelbar vor dem "Stripping" erfolgt eine Wägung der Szintillationsfläschchen mit den Tesafilmstreifen mit Hilfe einer analytischen Waage (Modell: Sartorius), die nach dem "Stripping" wiederholt wird. Aus der Gewichts Differenz beider Wägungen ergibt sich die pro Tesaabriß festgehaltene Gewebemenge.

Diese Tesaabrisse werden danach zur Radioaktivitätsbestimmung der in die Hornschicht eingedrungenen Substanz mit Hyamin, Wasser und Szintillationsgemisch aufbereitet und im LSA von Phillips gemessen. Die Aktivität wird in dpm pro cm² behandelter Hautoberfläche angegeben.

1. Versuch zur Bilanzierung des Aktivitätsverbleibs

Mit Hilfe dieses Versuches soll eine Aufschlüsselung des Aktivitätsverbleibs erreicht werden. Um die Möglichkeit zur Bilanzierung zu haben, ist es wichtig, die auf die Haut aufgetragene Aktivitätsmenge genau zu ermitteln.

Analog, wie unter C. beschrieben, werden 30 mg Salbe in der jeweiligen Salbengrundlage mit der tritiummarkierten Substanz auf einem Objekträger gemischt. Bevor die jetzt radiomarkierte Salbe auf den Glasspatel übertragen wird, wird eine kleine Menge dieser Salbe in ein 25 ml Meßkölbchen, dessen Gewicht vorher auf einer analytischen Waage bestimmt worden war, überführt. Wird anschließend das Gewicht des Meßkölbchens mit der radiomarkierten Salbenmenge bestimmt, so ergibt die Gewichts Differenz zum leeren Meßkölbchen die im Meßkölbchen befindliche Salbenmenge. Danach erfolgt die Ermittlung des Aktivitätsgehaltes dieser radiomarkierten Salbenmenge. Hierzu wird das Meßkölbchen mit 25 ml Toluol aufgefüllt. Nach Auflösen der Salbe werden daraus 0,3 ml in ein Szintillationsprobefläschchen gegeben und mit 0,1 ml Hyamin, 0,3 ml Wasser und 14,7 ml des Szintillationsgemisches aufgefüllt. Die Messung der Aktivität wird wiederum im Liquid-Szintillations-Counter durchgeführt.

Das genaue Gewicht der auf die Haut aufgetragenen Salbenmenge wird nach der unter E. beschriebenen Methode ermittelt. Da gleichzeitig nach der eben erwähnten Versuchsdurchführung eine Probe dieser Salbenmenge sowohl gravimetrisch als auch radiometrisch bestimmt worden ist, läßt sich der Aktivitätsgehalt der auf die Haut aufgetragenen Salbenmenge exakt errechnen.

So können die wiedergefundenen Aktivitäten in der Hornschicht, Epidermis, Cutis, Penetrationskammerwasser und im Wattebausch in Prozent der insgesamt aufgetragenen Aktivitätsmenge leicht wiedergegeben werden.

K. Verteilungskoeffizient

Um die Verteilung des 4-Chlortestosteronacetats oder Fluoroformylons zwischen einer wässrigen und einer lipophilen Phase zu ermitteln, wird der sogenannte Verteilungskoeffizient bestimmt. Am Beispiel des 4-Chlortestosteronacetats soll die Bestimmung des Verteilungskoeffizienten dargestellt werden.

1) Reagenzien

100 ml Octanol

100 ml Wasser

50 ml Aceton

4 mg unmarkiertes 4-Chlortestosteronacetat

2 μ Ci tritiummarkiertes 4-Chlortestosteronacetat

2. Arbeitsgang

Auf einer analytischen Waage werden 4 mg unmarkiertes ("kaltes") 4-Chlortestosteronacetat abgewogen, in ein Meßgefäß gegeben und mit 50 ml Aceton aufgefüllt. Nach Auflösung der "kalten" Substanz in Aceton werden mit Hilfe einer Mikropipette 100 μ l entnommen und in ein Becherglas überführt. In dasselbe Becherglas werden 200 μ l (entsprechen 2 μ Ci) einer in Aceton gelösten markierten ("heißen") 4-Chlortestosteronacetatmenge gegeben. Der Aktivitätsgehalt entspricht der Menge 4-Chlortestosteronacetat, mit der es für die Penetrationsuntersuchung in die Salbengrundlage eingearbeitet wurde.

Sobald das Aceton im Becherglas verdunstet ist, werden jeweils 100 ml n-Octanol und 100 ml H₂O zugeführt. Nach 6 maligem, 10 sec dauernem Mischen mit Hilfe eines Ultra-Turrax-Homogenisators (Firma: Jahnke und Kunkel) entsteht kurzfristig eine Emulsion, die bis zur völligen Phasentrennung in einen Scheidetrichter gebracht wird. 36 Stunden später werden 0,3 ml aus der wässrigen, sowie 0,3 ml der öligen Phase entnom-

men und jeweils in ein Szintillationsprobefläschchen gegeben. Beide Probefläschchen werden zur Aktivitätsmessung im Szintillations-Counter mit 0,1 ml Hyamin und 15 ml des Szintillationsgemisches versetzt. Die gemessenen Aktivitätswerte in den einzelnen Phasen stehen stellvertretend für die Verteilung des 4-Chlortestosteronacetats in der wässrigen und lipophilen Phase. Jede Untersuchung wurde mehrmals durchgeführt.

L. Umrechnung der Meßwerte

1) Bestimmung der wiedergefundenen Aktivitäten der Hornschicht, Epidermis und Cutis in % der aufgetragenen Aktivität.

a. Berechnung der aufgetragenen Aktivität

$$\left[\frac{\text{dpm}}{\text{cm}^2} \right]$$

Es gilt: 5 μCi sind in 30 mg Salbe gelöst.

$$1 \mu\text{Ci} = 2,23 \cdot 10^6 \text{ dpm}$$

daraus folgt, daß die Salbe

$$\frac{5 \cdot 2,23 \cdot 10^6}{30} \left[\frac{\text{dpm}}{\text{mg}} \right] \text{ enthält.}$$

Sei G die tatsächlich aufgetragene Menge Salbe (mg), die auf einer Fläche von 7 cm^2 verteilt wurde, dann folgt:

$$\frac{5 \cdot 2,23 \cdot 10^6}{30} \cdot \frac{G}{7} \left[\frac{\text{dpm} \cdot \text{mg}}{\text{cm}^2 \cdot \text{mg}} \right]$$

= auf die Haut aufgetragene Aktivität $\left[\frac{\text{dpm}}{\text{cm}^2} \right]$

b. gegeben ist die gemessene Aktivität der Hornschicht $\left[\frac{\text{dpm}}{\text{cm}^2} \right] = y$

Epidermis $\left[\frac{\text{dpm}}{\text{cm}^2} \right] = z$

und Cutis $\left[\frac{\text{dpm}}{\text{cm}^2} \right] = a$

c. Bestimmung der relativen Aktivitätsmenge (%) in der jeweiligen Hautschicht bezogen auf die aufgetragene Aktivität:

$$100 \% = \frac{5 \cdot 2,23 \cdot 10^6}{30} \cdot \frac{G}{7} \left[\frac{\text{dpm}}{\text{cm}^2} \right]$$

$$x \% = y \left[\frac{\text{dpm}}{\text{cm}^2} \right]$$

Als Beispiel für die Hornschicht:

$$x \% = \frac{100 \cdot y \cdot 30}{5 \cdot 2,23 \cdot 10^6} \cdot \frac{7}{G} \left[\frac{\text{cm}^2 \cdot \text{dpm}}{\text{dpm} \cdot \text{cm}^2} \right]$$

2) Bestimmung der Substanzmenge in μg pro cm^3 Gewebe

a. Bestimmung der Dicke der Hornschicht

bestimmt (gravimetrisch):

Die Masse der Hornschicht (durch Addition der an jedem einzelnen Teststrip anhaftenden Gewebemenge) beträgt im Mittelwert auf einer Fläche von 7 cm^2 : 14 mg

angenommen: Dichte der Hornschicht = $1 \left[\frac{\text{g}}{\text{cm}^3} \right]$

$$= \frac{\text{Masse}}{\text{Volumen}} = \frac{\text{Masse}}{l \cdot h \cdot b} \left[\frac{\text{g}}{\text{cm}^3} \right],$$

wobei l = Länge

h = Höhe

b = Breite

und Masse = Gewicht ist.

nach h aufgelöst:
$$h = \frac{\text{Masse}}{l \cdot b \cdot \rho} \left[\frac{\text{g} \cdot \text{cm}^3}{\text{cm}^2 \cdot \text{g}} \right]$$

$$h = \frac{0,014 \cdot \text{cm}}{7} = 0,002 \text{ cm} = \underline{20 \mu}$$

b. Dicke der Epidermis

Die sehr variable Epidermisdicke wurde - nach histologischer Auswertung von Vertikalschnitten nach mehreren Horizontalserienschnitten - in grober Annäherung für einen Mittelwert von 160 μ festgelegt.

c. Bestimmung der Dicke der Cutis:

Die Summe der gewonnenen 40 μ Horizontalschnitte ergibt als Mittelwert bei 80 Hautproben eine durchschnittliche Dicke der Cutis von 1080 μ .

d. Bestimmung der Absolutmenge der Substanz in μg pro cm^3 in der Hornschicht:

Es gilt: I. In 30 mg Salbe sind 30 μg unmarkierte Substanz enthalten da sie zu 0,1 % in die Salbengrundlage eingearbeitet wurde.

II. 30 μg unmarkierte Substanz werden mit 5 μCi markierter Substanz versetzt (s. Methodik).

III. 1 $\mu\text{Ci} = 2,23 \cdot 10^6 \text{ dpm}$.

daher entsprechen: $30 \mu\text{g} = 5 \cdot 2,23 \cdot 10^6 \text{ dpm}$

$$\text{und } 1 \mu\text{g} = \frac{5 \cdot 2,23 \cdot 10^6 \text{ dpm}}{30}$$

Gegeben ist die gemessene Aktivität in der Hornschicht bezogen auf 1 cm^2 Hautoberfläche und 20μ Dicke (s. 2a.).

Gesucht: Wieviel $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ entsprechen den in der Hornschicht gefundenen dpm?

$$\text{also: } x \mu\text{g} = \frac{y \cdot \text{dpm}}{\text{cm}^2 \cdot 20 \mu}$$

wenn y = gemessene dpm in der Hornschicht, nach einem Volumen von 1 cm^3 aufgelöst ergibt sich:

$$x \mu\text{g} = \frac{y \text{ dpm}}{20 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^3}$$

$$x \mu\text{g} = \frac{y \text{ dpm} \cdot 10^4}{20 \text{ cm}^3}$$

$$x \mu\text{g} = \frac{y \cdot 500 \text{ dpm}}{\text{cm}^3}$$

$$\text{da } 1 \mu\text{g} = \frac{5 \cdot 2,23 \cdot 10^6 \text{ dpm}}{30} \text{ sind, ergibt sich}$$

$$\text{für } x = \frac{1 \mu\text{g} \cdot y \cdot 500 \frac{\text{dpm}}{\text{cm}^3}}{\frac{5 \cdot 2,23 \cdot 10^6 \text{ dpm}}{30}}$$

$$x = \frac{\mu\text{g} \cdot y \cdot 500 \cdot 30 \text{ dpm}}{5 \cdot 2,23 \cdot 10^6 \text{ dpm} \cdot \text{cm}^3}$$

e. Bestimmung der Absolutmenge der Substanz in μg pro cm^3 in der Epidermis. Es gelten die gleichen Bedingungen (I.-III.) wie unter 2 d. aufgeführt.

Gegeben ist die gemessene Aktivität in der Epidermis bezogen auf 1 cm^2 Hautoberfläche und 160μ Dicke (s. 2 b.).

Gesucht: Wieviel $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ entsprechen den in der Epidermis gefundenen dpm?

also:
$$x \mu\text{g} = \frac{z \text{ dpm}}{\text{cm}^2 \cdot 160 \mu}$$

wenn z = gemessene dpm in der Epidermis ist. Nach einem Volumen von 1 cm^3 aufgelöst, ergibt sich:

$$\begin{aligned} x \mu\text{g} &= \frac{z \text{ dpm}}{160 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^3} = \frac{z \text{ dpm} \cdot 10^4}{160 \text{ cm}^3} \\ &= \frac{z \cdot 62,5 \text{ dpm}}{\text{cm}^3} \end{aligned}$$

Es folgt der analoge Rechengang, wie bei der Hornschicht beschrieben wurde, so daß schließlich folgende Formel erhalten wird:

$$x = \frac{\mu\text{g} \cdot z \cdot 62,5 \cdot 30}{5 \cdot 2,23 \cdot 10^6 \text{ cm}^3}$$

f. Bestimmung der Absolutmenge der Substanz in μg pro cm^3 in der Cutis

Es gelten die gleichen Bedingungen (I. - III.) wie unter 2 d. aufgeführt.

Gegeben ist die gemessene Aktivität in der Cutis bezogen auf 1 cm^2 Hautoberfläche und 1080μ Dicke (s. 2c. .).

Gesucht: Wieviel $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ entsprechen den in der Cutis gefundenen dpm?

$$\text{also: } x \mu\text{g} = \frac{a \text{ dpm}}{\text{cm}^2 \cdot 1080 \mu},$$

wenn a = gemessene dpm in der Cutis ist; nach einem Volumen von 1 cm^3 aufgelöst, ergibt sich:

$$x \mu\text{g} = \frac{a \text{ dpm}}{1080 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^3} = \frac{a \text{ dpm} \cdot 10^4}{1080 \text{ cm}^3} = \frac{a \cdot 9,26 \text{ dpm}}{\text{cm}^3}$$

es folgt der analoge Rechengang, wie bei Hornschicht beschrieben wurde, so daß schließlich folgende Formel erhalten wird:

$$x = \frac{\mu\text{g} \cdot z \cdot 9,26 \cdot 30}{5 \cdot 2,23 \cdot 10^6 \text{ cm}^3}$$

3) Bestimmung der Konzentrationen in Mol pro cm^3 und Molarität.

Berechnet ist bereits die Menge der Substanz in $\mu\text{g}/\text{cm}^3$, da per def.

$$\text{Mol} = \frac{g}{\text{Molekulargewicht}}$$

$$\text{und } \mu\text{Mol} = \frac{\mu\text{g}}{\text{Molekulargewicht}}$$

ist, ergibt sich bei Division durch das Molgewicht die Konzentration in Mol/cm^3 bzw. $\mu\text{Mol}/\text{cm}^3$.

$$\mu\text{Mol}/\text{cm}^3 = \frac{x \mu\text{g}}{\text{Molgewicht} \cdot \text{cm}^3}$$

weiter, da $1 \text{ Mol/l} = 1 \text{ molar (m)}$ entsprechen

$1 \text{ mMol/ml} = 1 \text{ m}$ ist, folgt daraus

$1 \mu\text{Mol/ml} = 1 \text{ m}$

also $1 \mu\text{Mol}/\text{cm}^3 = 1 \text{ m}$

$$\text{oder} \quad 1 \text{ m} = \frac{x \text{ } \mu\text{g}}{\text{Molekulargewicht} \cdot \text{cm}^3} \cdot 10^3$$

$$10^{-3} \text{ m} = \frac{x \text{ } \mu\text{g}}{\text{Molekulargewicht} \cdot \text{cm}^3}$$

Ergebnisse

A. Penetration in die Hornschicht

- 1) Es wurde das Penetrationsverhalten von 4-Chlortestosteronacetat und Fluoroformylon ermittelt, sowie die gegenseitige Beeinflussung beider Substanzen jeweils in 4 verschiedenen Salbengrundlagen.

Die Tabellen 1 - 4 geben den Hornschichtanteil in Prozent der insgesamt wiedergefundenen Aktivität bei 4-Chlortestosteronacetat, Fluoroformylon, H^3 -markiertes Fluoroformylon mit unmarkiertem 4-Chlortestosteronacetat und H^3 -markiertes 4-Chlortestosteronacetat mit Fluoroformylon in Abhängigkeit der fünf verschiedenen Penetrationszeiten an.

Der größte Anteil der insgesamt in der Haut wiedergefundenen Aktivität reichert sich in der Hornschicht an. Bei allen der vier untersuchten Substanzen oder Substanzgemischen - unabhängig von den galenischen Zubereitungen - ergibt sich kaum ein Unterschied während der Penetrationszeiten von 10 - 100 min. Ab 300 min sammelt sich jedoch deutlicher das polare Fluoroformylon in einer größeren Menge in der Hornschicht an als das etwas unpolare 4-Chlortestosteronacetat. Das gilt für alle vier Vehikel. Dabei sind aber zwischen den einzelnen Salbengrundlagen Unterschiede

bei der Anwendung in der Hornschicht zu erkennen: Bei der wasserhaltigen-hydrophilen Salbe und bei der Einphasensalbe Vaseline findet bei beiden markierten Substanzen die geringste Anreicherung in der Hornschicht statt.

Wird hingegen zu 4-Chlortestosteronacetat und Fluoroformylon jeweils die andere Substanz zugesetzt, so ist der Aktivitätsanteil in der Hornschicht ab 300 min Einwirkungszeit größer als bei 4-Chlortestosteronacetat und Fluoroformylon allein. Diese Tendenz ist unabhängig von der Salbengrundlage (Tab. 1 - 4).

- 2) Die Tabellen 17 - 28 geben die Prozentwerte der aufgetragenen Menge, absolute und molare Konzentrationen in der jeweiligen Hautschicht der beiden Einzelsubstanzen und ihrer Gemische in den einzelnen Schichten der Haut an.

Sie stellen die Abhängigkeit von der aufgetragenen zur in die Haut eingedrungenen Substanzmenge dar. Da aber die aufgetragene Substanzmenge innerhalb der Untersuchungsreihe schwanken kann, sind bei diesen Tabellen vergleichende Aussagen des Penetrationsverhaltens von verschiedenen Substanzen nur in einer gewissen Annäherung möglich. Demgegenüber erweisen sich die Tabellen 1 - 12, welche die in die einzelnen Hautschichten eingedrungene Aktivität in Prozent der insgesamt wiedergefundenen Aktivität angeben, als vorteilhafter für die hier angestellten Penetrationsstudien. Auf der anderen Seite können jedoch molekularbiologische Überlegungen an Hand der oben erwähnten Absolutwerttabellen weit besser durchgeführt werden.

Auffällig ist, daß der Hornschichtanteil bei Verwendung von Vaseline (Tab. 17) als Vehikel im Vergleich zu den anderen Salbengrundlagen stets

am niedrigsten ist. Ferner ist in dieser Grundlage nach 10 min Penetrationszeit keine merkliche Steigerung des Hornschichtanteils mehr festzustellen; bei Fluorofomylon ist diese Steigerung etwas deutlicher ausgeprägt als bei 4-Chlortestosteronacetat.

Die wasserhaltige hydrophile Salbe (Tab. 19) stellt zweifelsohne den Träger dar, bei dessen Verwendung, von geringfügigen Ausnahmen abgesehen, der höchste Hornschichtanteil gefunden wird. Dies ist wiederum bei Fluorofomylon deutlicher als bei 4-Chlortestosteronacetat.

Die Absolutkonzentrationen in der Hornschicht bei Anwendung von Fluorofomylon in den Vehikeln wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe (Tab. 18) und Polyäthylenglykolsalbe (Tab. 20) sind nahezu gleich hoch, während bei Einarbeitung von 4-Chlortestosteronacetat ein deutlich geringerer Hornschichtanteil in die Grundlage Polyäthylenglykol gegenüber der wasserhaltigen Wollwachsalkoholsalbe zu verzeichnen ist.

B. Penetration in Epidermis und Cutis

- 1) Die Penetration der Substanzen in die Epidermis und Cutis hängt vom Verhalten dieser in der Hornschicht ab. Die Tabellen 5 - 12 geben die penetrierte Menge in Prozent der Hornschichtaktivität in der Epidermis (Tab. 5 - 8) und in der Cutis (Tab. 9 - 12) für alle vier verschiedenen Salbengrundlagen wieder.

4-Chlortestosteronacetat zeigt in den Vehikeln Vaseline und wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe ein kontinuierliches Eindringen in die Epidermis. Der Zeiteinfluß spielt eine entscheidende Rolle, ab 100 min beginnt die Penetration langsam (über 1 % des insgesamt in die Haut penetrierten Anteils) und steigt dann je nach Salbengrundlage schnell an. In Vaseline verzehnfacht sich die Aktivitätsmenge von der Penetrationszeit 100 -

1000 min. Wird bei der wasserhaltigen Wollwachsalkoholsalbe der 10 min Wert als "Streuwert" betrachtet, so steigt die bei 100 min beginnende Penetration um da 7 1/2 fache bei einer Einwirkungszeit von 1000 min an. Ein ähnliches Verhalten weist 4-Chlortestosteronacetat auch in der wasserhaltigen hydrophilen Salbe auf, nur steigert sich die ebenfalls bei 100 min beginnende Penetration zwischen 300 min und 1000 min erheblich, so daß sich die wiedergefundene Aktivitätsmenge zwischen 100 und 1000 min versiebzehnfacht. Bei Polyäthylenglykolsalbe findet sich von allen vier Vehikeln die geringste Aktivität in der Epidermis. Eine erst bei 300 min beginnende Penetration erreicht bei 1000 min 14,08 % der insgesamt wiedergefundenen Aktivität.

Entsprechendes läßt sich bei den Cutiswerten sagen: Bei der W/Ö Emulsion (wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe) übersteigt in der Cutis der Anteil der Aktivität, die erst ab 100 min Penetrationszeit vorhanden ist, die Epidermiswerte geringfügig. Ähnliches zeigt sich auch bei der Verarbeitung von 4-Chlortestosteronacetat in Vaseline:

4-Chlortestosteronacetat reichert sich hier zu 28 % in der Cutis an. Bei Polyäthylenglykolsalbe als Vehikel bleiben die Cutiswerte ein wenig hinter den Epidermiswerten zurück. Ebenso bei 1000 min Einwirkungszeit einer wasserhaltigen hydrophilen 4-Chlortestosteronacetatsalbe (Tab. 9 - 12).

Die polarere Substanz Fluoroformylon hingegen dringt bei diesen in vitro Experimenten in allen vier Salbengrundlagen kaum in die Epidermis und Cutis ein. Als einziger Wert über 1 % findet sich der 1000 min Wert bei Einarbeitung in das Vehikel Vaseline, während alle anderen Werte meist unter 0,5 % liegen (Tab. 5 - 12).

Der Zusatz von Fluoroformylon zu 4-Chlortestosteronacetat behindert letzteres bei der Penetration in Epidermis und Cutis in allen galenischen

Zubereitungen erheblich. Von einigen herausfallenden Werten abgesehen, beginnt eine Penetration im bescheidenen Maße erst bei 300 min und erreicht die 4 %-Grenze in keiner Grundlage (Tab. 5 - 12).

Ein 4-Chlortestosteronacetatzusatz zu einer 0,1 % igen Fluoroformylonsalbe bedingt, im Gegensatz zu Fluoroformylon allein, eine etwas bessere aber dennoch geringere Penetration in Epidermis und Cutis (Tab. 5 - 12).

Bemerkenswert ist, daß die wiedergefundene Aktivität einer 0,1 % igen Fluoroformylonsalbe mit 4-Chlortestosteronacetatzusatz bei 300 min Penetrationszeit sowohl in Epidermis als auch in Cutis ein Maximum erreicht, während sie bei 1000 min deutlich abfällt. Einzige Ausnahme ist das Verhalten im Vehikel Polyäthylenglykolsalbe in der Epidermis, wo von 300 bis 1000 min eine Steigerung von 0,48 % auf 0,60 % zu verzeichnen ist (Tab. 5 - 12).

- 2) In allen vier galenischen Zubereitungen liegt bei 4-Chlortestosteronacetat ein fast gleichmäßiger Anstieg der Absolutwerte in der Epidermis vor.

Das Vehikel wasserhaltige hydrophile Salbe, - von einer Ausnahme abgesehen - den höchsten Cutisanteil der Absolutwerte für 4-Chlortestosteronacetat.

Wird die Tabelle 29 verglichen, in der die Konzentrationen (in Mol) einer Substanz oder eines Substanzgemisches in Prozent der Konzentration der anderen Substanzen angegeben werden, so dringen nur 0,7 - 4,7 % dessen an Fluoroformylon im Vergleich zu 4-Chlortestosteronacetat in die Epidermis ein.

Ein Zusatz von 4-Chlortestosteronacetat zu Fluoroformylon bedingt eine Verdreifachung der Penetration des Fluoroformylons in Vaseline als Träger. Die Penetration von 4-Chlortestosteronacetat dagegen sinkt durch einen Fluoroformylonzusatz auf ein Zehntel.

In der Kombination von 4-Chlortestosteronacetat mit markiertem Fluorofomylon befindet sich nach 300 min Einwirkungszeit die maximale Menge von Fluorofomylon in der Epidermis. Die Gewebekonzentration ist, wenn alle Salbengrundlagen einbezogen werden, in der Epidermis $0,4 - 3,7 \cdot 10^6$ molar.

Wird Fluorofomylon dem 4-Chlortestosteronacetat zugesetzt, so liegt bei 1000 min Penetrationszeit die Gewebekonzentration im Hinblick auf alle 4 Vehikel zwischen $1,3$ und $3,1 \cdot 10^{-9}$ Mol/cm³ Gewebe, d.h. die Gewebekonzentration der Substanz ist $1,3 - 3,1 \cdot 10^{-6}$ molar. Die analogen Daten für die anderen Penetrationszeiten und für die Cutis sind aus den Tabellen zu entnehmen.

C. Vehikelabhängige Substanzverteilung in Hornschicht (a), Epidermis (b)
und Cutis (c)

Die Abbildungen zeigen die Aktivitäten (gemessen in dpm)

- a. als Funktion der Hornschichtabrisse,
- b. als Funktion der Schichttiefe (in 10μ Schnitten von $10 - 160 \mu$ Schichttiefe),
- c. als Funktion der Schichttiefe (in 40μ Hautschnitten).

Sechs Verteilungskurven für 1000 min Penetrationszeit von 4-Chlortestosteronacetat und Fluorofomylon sollen stellvertretend für alle anderen Verteilungskurven abgebildet sein. Für die restlichen Penetrationszeiten wird aus Gründen der Übersichtlichkeit das Verhalten der Substanzen an Hand hier nicht dargestellter Kurven diskutiert.

Für die Hornschichtverteilungskurven gilt:

Je steiler die Kurve, desto größer die Barrieren innerhalb der Hornschicht und dementsprechend die Anreicherung der Substanz in der Hornschicht.

Hohe Anreicherung in der Hornschicht kann auch schlechte Weiterpenetration in tiefere Hautschichten bedeuten.

I. 4-Chlortestosteronacetat

1) Weißes Vaseline (DAB 7)

- a. Die Hornschichtverteilungskurven der Penetrationszeiten von 10 bis 300 min für Vaseline als Salbengrundlage zeigen einen steilen Abfall zur Tiefe der Hornschicht hin; der 30 min Wert ist nicht zu bewerten, da hier eine zu große Streuung vorliegt, die erst bei 1000 min etwas abflacht. Die abgeflachte 1000 min Kurve (Abb. 1) weist auf eine geringere Substanzanreicherung in der Hornschicht hin, ein Vergleich mit Tabelle 1 würde diese Aussage auch bestätigen.

b.

- und c. Die Kurven, die die Abhängigkeit von Schichttiefe ($10\ \mu$ Horizontalschnitte) und wiedergefundener Aktivität für die Epidermis wiedergeben, konnten erst ab 100 min aufgestellt werden. Die 100 min Kurve zeigt eine bis $80\ \mu$ Schichttiefe steil abfallende Gerade, die dann in eine Horizontale abknickt. Dies bedeutet, daß es zwischen 80 und $160\ \mu$ in der Epidermis zu einer Gleichverteilung der Substanz kommt. In der Cutis findet sich bei 100 min keine Aktivität. Bei 300 min kommt es in der Epidermis nach einem leichten Abfall der Kurve bis $30\ \mu$ Schichttiefe zu einer Horizontalen, so daß ab hier von einer gleichmäßigen Substanzverteilung geredet werden kann. Die Epidermis/Cutiskurven, die die Epidermis und Cutis in $40\ \mu$ Horizontalschnitten erfaßt, zeigt einen stetigen Abfall bis in die tiefsten Schichten der Cutis. Auch bei

1000 min Einwirkungszeit kommt es in der Epidermis zu einer gleichmäßigen Substanzanreicherung (Abb. 2), was sich in einer Horizontalen ab $80\ \mu$ Schichttiefe zeigt. Im Gegensatz zu 300 min zeigt das 1000 min Epidermis/Cutisbild (Abb. 1) eine Gleichverteilung der Substanz in den tiefsten Schichten der Cutis.

2) Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe (DAB 7)

- a. Auch bei der Einarbeitung von 4-Chlortestosteronacetat in eine W/C Emulsion (wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe) zeigt sich das gleiche Hornschichtbild wie bei Vaseline, wobei der 100 min Versuch wegen zu großer Streuung nicht miteinbezogen werden kann. Bis 300 min steil abfallende Kurven, danach deutliche Abflachung bei 1000 min. (Abb. 3).
- b. Bei 4-Chlortestosteronacetat im Vehikel wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe stellt sich in der Epidermis bei 10 bis 300 min - der 30 min Wert konnte wegen der großen Streuung nicht gewertet werden - eine Gleichverteilung ein, auch bei 1000 min Einwirkungszeit (Abb. 4) wird eine gleichmäßige Substanzanreicherung ab $50\ \mu$ festgestellt.
- c. Die Epidermis/Cutiskurven zeigen bei 10 und 100 min erst einen steilen Abfall, der dann in eine Horizontale übergeht. Die 300 min Kurve fällt stetig ab bis in die tiefsten Schichten der Cutis, während bei der langen Penetrationszeit von 1000 min (Abb. 3) ab $300\ \mu$ Schichttiefe von einer Gleichverteilung der Substanz in der Cutis gesprochen werden kann.

3) Wasserhaltige hydrophile Salbe (DAB 7)

- a. Wird eine 0,1 % 4-Chlortestosteronacetat Ö/W Emulsion (wasserhaltige hydrophile Salbe) benutzt, zeigt sich ein ähnliches Verhalten in der Hornschicht wie bei Vaseline: Die anfangs sehr steilen Kurven bis 300 min werden bei 1000 min Penetrationszeit (Abb. 5) deutlich flacher.
- b. 4-Chlortestosteronacetat dringt in dieser Salbengrundlage erst ab 100 min in die Epidermis und Cutis ein. Bei 100 min zeigt die Epidermiskurve eine flache abfallende Gerade im Bereich von 10 - 160 μ Schichttiefe, bei 300 und 1000 min Einwirkungszeit (Abb. 6) stellt sich nach 60 μ Schichttiefe eine Gleichverteilung der Substanz in der Epidermis ein.
- c. Die Epidermis/Cutiskurven weisen bei 100 bis 1000 min Penetrationszeit einen konstanten stetigen Abfall auf, es kommt also auch in den tiefsten Schichten der Cutis zu keiner gleichmäßigen Anreicherung von 4-Chlortestosteronacetat.

4) Polyäthylenglykosalbe (DAB 7)

- a. Erst bei Polyäthylenglykosalbe als Vehikel liegt ein anderes Verteilungsbild in der Hornschicht vor: Die Steigung der Kurven ist weit geringer als bei den anderen 3 Salbengrundlagen. Sehr flache Kurven bei 10 und 30 min Penetrationszeit werden zunehmend bei 100 und 300 min steiler. Die 1000 min Kurve (Abb. 7) zeigt wiederum einen flacheren Verlauf. Ebenso wie bei 10 min knickt diese Kurve in den tieferen Lagen der Hornschicht ab, um dann in eine Horizontale überzugehen. Die Horizontale bedeutet eine gleichmäßige Verteilung der Substanz in den tieferen Schichten der Hornschicht.

- b. Bei 10 min hat sich die Substanz in der Epidermis in dieser Salbengrundlage schnell gleichmäßig verteilt. Nach einem anfänglich steilen Kurvenabfall findet bei einer Einwirkungszeit von 300 min ab $40\ \mu$ Schichttiefe eine Gleichverteilung in der Epidermis statt, während man bei den Epidermiskurven von 30 und 1000 min (Abb. 8) von einer gleichmäßigen Substanzanreicherung in der Epidermis wegen eines stetig abfallenden Kurvenverlaufes nicht sprechen kann. Beim 100 min Versuch dringt in Epidermis und Cutis nichts ein.
- c. Bei Betrachtung der Epidermis/Cutiskurven, die die Aktivität in der Haut in $40\ \mu$ Horizontalschnitten erfassen, zeigt sich für Polyäthylenglykosalbe als Vehikel für 4-Chlortestosteronacetat, daß es bei 10 min Penetrationszeit zu einer Gleichverteilung in $500\ \mu$ Schichttiefe, bei 1000 min Penetrationszeit (Abb. 7) jedoch in $1000\ \mu$ Schichttiefe kommt, während sich bei 300 min Einwirkungszeit ein steiler linearer Kurvenabfall zeigt und sich diese Gleichverteilung nicht einstellt. Die Kurve für 30 min kann wegen zu starker Streuung nicht bewertet werden.

II. H^3 -markiertes 4-Chlortestosteronacetat mit Fluorofomylonzusatz

1) Weißes Vaseline (DAB 7)

- a. Durch den Zusatz von Fluorofomylon zu 4-Chlortestosteronacetat in Vaseline als Salbengrundlage verändert sich das Bild der Homschichtverteilungskurven gegenüber 4-Chlortestosteronacetat allein nicht. Auch die Streuung des 30 min Wertes tritt hier wieder auf.
- b.
- und c. Beim Zusatz von Fluorofomylon zur 0,1 % 4-Chlortestosteronacetatsalbe mit Vaseline als Salbengrundlage dringt jedoch von 10 - 100 min die Substanz nicht in die Epidermis und Cutis ein. Erst das 300 und

1000 min Bild ermöglichen einen Vergleich der Verteilung von 4-Chlortestosteronacetat in Epidermis und Cutis mit und ohne Zusatz von Fluoroformylon im Vehikel weiße Vaseline. Der Verteilungsmodus in Epidermis und Cutis beim Fluoroformylonzusatz ist denen ohne Fluoroformylonzusatz gleich, aber die in die Epidermis und Cutis eingedrungene Menge ist um eine Zehnerpotenz geringer.

2) Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe (DAB 7)

a. Wird eine 0,1 % 4-Chlortestosteronacetat W/Ö Emulsion mit Fluoroformylon versetzt und auf die Haut aufgetragen, so zeigen die Hornschichtverteilungskurven von 10 bis 300 min keinen Unterschied zu den Kurven ohne Fluoroformylonzusatz. Erst bei 1000 min Penetrationszeit wird durch den Zusatz die von Aktivität und Abrißanzahl gebildete Kurve steiler, sie ähnelt der 300 min Kurve von 4-Chlortestosteronacetat allein. Dies belegt auch die höhere prozentuale Anreicherung in der Hornschicht durch einen Fluoroformylonzusatz bei 1000 min (Tab. 2).

b.

und c. Ein Zusatz von Fluoroformylon zu 4-Chlortestosteronacetat bei der wasserhaltigen Wollwachsalkoholsalbe als Salbengrundlage verhindert ein Eindringen der Substanz in die Epidermis und Cutis bis 300 min Penetrationszeit. Die Epidermiskurven der Aktivität in jeweils 10 μ Schnitten und Epidermis/Cutiskurven in jeweils 40 μ Schnitten bei 300 und 1000 min gleichen denen ohne den Zusatz von Fluoroformylon. Allerdings ist hierbei zu beachten, daß der Aktivitätsbereich wie bei Vaseline als Vehikel um eine Zehnerpotenz kleiner ist.

3) Wasserhaltige hydrophile Salbe (DAB 7)

a. Bei der wasserhaltigen hydrophilen Salbe als Vehikel ändert der Zusatz von Fluoroformylon zu 4-Chlortestosteronacetat das Verteilungs-

bild in der Hornschicht während der gesamten untersuchten Penetrationszeit von 10 - 1000 min nicht. Der einzige Unterschied beim Zusatz von Fluoroformylon besteht in einem höheren Aktivitätsniveau der oberen Hornschichtlagen.

- b.
und c. Der Zusatz von Fluoroformylon zu 4-Chlortestosteronacetat bewirkt bei 300 min und 1000 min Einwirkungszeit im Gegensatz zu 4-Chlortestosteronacetat allein eine Gleichverteilung der Substanz in der Cutis ab $400\text{ }\mu$ Schichttiefe bei wiederum geringeren Absolutwerten der Aktivität. Die Epidermiskurven ähneln den 4-Chlortestosteronacetatkurven. Ein Eindringen in die Epidermis und Cutis von 10 - 100 min Penetrationszeit findet weder mit noch ohne Fluoroformylon statt.

4) Polyäthylenglykosalbe (DAB 7)

- a. Bei Verwendung von Polyäthylenglykosalbe als Grundlage bringt der Zusatz von Fluoroformylon bei 10, 100, 300 und 1000 min keine Veränderung im Hornschichtverteilungsbild. Einzig beim 30 min Wert wird eine deutlich steilere Gerade beim Fluoroformylonzusatz ermittelt.
- b.
und c. Ein Zusatz des polareren Fluoroformylons beim Vehikel Polyäthylenglykosalbe verhindert die Penetration der Substanz in Epidermis und Cutis bis einschließlich 300 min Einwirkungszeit. Erst bei 1000 min Penetrationszeit kann ein Kurvenverlauf der Substanzverteilung in Epidermis und Cutis beurteilt werden. Die Substanzverteilung in der Epidermis gleicht der ohne Fluoroformylonzusatz. In der Epidermis/Cutiskurve stellt sich eine Gleichverteilung schon bei $400\text{ }\mu$ Schichttiefe durch den Zusatz von Fluoroformylon ein. Allerdings liegt auch hier wieder der Aktivitätsbereich um eine Zehnerpotenz niedriger als bei 4-Chlortestosteronacetat allein.

III. Fluoroformylon

1) Weißes Vaseline (DAB 7)

a. Wird die polarere Substanz Fluoroformylon in Vaseline eingearbeitet und auf die Haut aufgetragen, so ergeben die Hornschichtverteilungskurven bei allen Penetrationszeiten sehr steil abfallende Geraden. Bei 300 min und 1000 min deutet sich eine ganz geringfügige Abflachung an.

b.

und c. Im Vehikel Vaseline dringt Fluoroformylon während der gesamten Penetrationszeit von 10 - 1000 min nicht in die Epidermis und Cutis ein.

2) Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe (DAB 7)

a. Auch bei der wasserhaltigen Wollwachsalkoholsalbe als Vehikel für Fluoroformylon zeigen sich genauso steil abfallende Geraden von 10 - 1000 min wie bei der Salbengrundlage Vaseline. Die sehr steilen Kurven bestätigen die in den Tabellen 1 - 4 erwähnte hohe prozentuale Anreicherung der Substanz in der Hornschicht.

b.

und c. Nur bei 1000 min Penetrationszeit dringt die Substanz in die Epidermis und Cutis ein. Weder die Epidermis (Abb. 10), noch die Epidermis/Cutisverteilungskurven (Abb. 9) weisen dabei eine Gleichverteilung auf.

3) Wasserhaltige hydrophile Salbe (DAB 7)

a. Dient diese Ö/W Emulsion als Salbengrundlage für Fluoroformylon, so liegen ziemlich steile, aber dennoch flachere Kurven als bei Vaseline und der wasserhaltigen Wollwachsalkoholsalbe über alle fünf

Penetrationszeiten vor. Im Gegensatz zu den anderen beiden Vehikeln weisen die oberen Hornschichtlagen deutlich eine höhere Aktivität auf.

b.

und c. Nur bei 100 und 1000 min Penetrationszeit (Abb. 11) dringt Fluoroformylon in die Epidermis und Cutis ein. Während dieser Penetrationszeiten liegt eine Gleichverteilung der Substanz in der Epidermis vor. Eine jeweils steil abfallende Kurve im Epidermis/Cutisbereich deutet auf einen steten Abfall der Aktivität bis in die tiefsten Hautschichten.

4) Polyäthylenglykosalbe (DAB 7)

a. Wird eine 0,1 % Fluoroformylonsalbe mit Polyäthylenglykosalbe aufgetragen, so zeigen die Verteilungskurven in der Hornschicht bei 10 und 30 min anfangs sehr steile, dann aber vom 5. Abriß in eine Horizontale übergehende Kurven. Bei 100 min Penetrationszeit deutet sich schon eine steile Gerade an, die bei 300 und 1000 min Penetrationszeit dann deutlich ausgeprägt ist.

b.

und c. Fluoroformylon dringt in diesem Vehikel nicht in die Epidermis und Cutis ein.

IV. H^3 -markiertes Fluoroformylon mit 4-Chlortestosteronacetatzusatz

1) Weißes Vaseline (DAB 7)

a. Ein Zusatz von 0,1 % 4-Chlortestosteronacetat zu einer 0,1 % Fluoroformylon-Vaseline bewirkt im Hinblick auf die Steilheit der Verteilungskurven der Hornschicht keine Veränderung. Allerdings wird ab 100 min Penetrationszeit eine Anhebung des Aktivitätsbereichs durch einen 4-Chlortestosteronacetatzusatz deutlich. Beim Zusatz befindet sich dieser Bereich zwischen 10^5 bis 10^3 dpm $\cdot$ cm $^{-2}$, ohne Zusatz zwischen 10^4 bis 10^2 dpm $\cdot$ cm $^{-2}$.

b.

und c. In dieser Salbengrundlage ermöglicht der 4-Chlortestosteronacetatzusatz dem Fluorofomylon ein Eindringen der Substanz bei 300 und 1000 min Penetrationszeit. In diesen Penetrationszeiten zeigen die Epidemiskurven zwei kongruente Bilder bei völliger Gleichverteilung der Substanz in der Epidemis. Im Gegensatz hierzu kommt es in der Cutis durch den Zusatz bei 300 und 1000 min zu keiner Gleichverteilung, die Epidemis/Cutiskurven fallen mäßig bis in die tiefste Schicht der Cutis ab.

2) Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe (DAB 7)

a. Bei der wasserhaltigen Wollwachsalkoholsalbe als Vehikel zeigt ein 4-Chlortestosteronacetatzusatz ebenfalls die steil abfallenden Geraden über 10 - 1000 min wie Fluorofomylon allein. Auch hier findet eine Erhöhung des Aktivitätsbereiches um eine halbe Zehnerpotenz bei allen Penetrationszeiten statt.

b.

und c. Wird 4-Chlortestosteronacetat dem Fluorofomylon in wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe zugesetzt, so bewirkt dieser Zusatz schon eine Penetration in die Epidemis und Cutis ab 300 min. Bei 300 min verteilt sich die Substanz in den tieferen Schichten der Epidemis gleichmäßig. Das Epidemis/Cutisbild bei dieser Penetrationszeit ähnelt sehr dem Verteilungsbild des 4-Chlortestosteronacetats, auch hier beginnt eine gleichmäßig Substanzanreicherung ab $400\ \mu$ Schichttiefe. Die 1000 min Kurven deuten auf eine genaue Parallelität mit dem Kurvenbild der Substanz ohne 4-Chlortestosteronacetatzusatz hin.

3) Wasserhaltige hydrophile Salbe (DAB 7)

a. Die Aussage über Vaseline und wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe gilt auch für die Ö/W Emulsion als Salbengrundlage:
Ebenfalls gleiche Verteilungsbilder sowie eine Anhebung des Aktivitätsbereichs um eine halbe Zehnerpotenz durch den Zusatz von 4-Chlortestosteronacetat zu Fluorofomylon. Dieser Zusatz bewirkt also, daß Fluorofomylon in den höheren Lagen der Hornschicht in größeren Mengen festgehalten wird.

b.

und c. Bei 4-Chlortestosteronacetatzusatz in diesem Vehikel findet eine geringere, aber kaum auswertbare Anreicherung der Substanz in der Epidermis und Cutis schon bei 100 min statt. Bessere Bilder liefern die Penetrationszeiten 300 und 1000 min. Die 300 min Kurve der Epidermiswerte zeigt eine mäßig abfallende Gerade, während das Epidermisbild bei 1000 min dem Bild ohne 4-Chlortestosteronacetatzusatz gleicht, da auch hier eine ebenmäßige Verteilung vorliegt. Von 100 - 1000 min kommt es zu keiner Gleichverteilung in der Cutis. Die anfänglichen leicht abfallenden Epidermis/Cutiskurven werden mit zunehmender Penetrationszeit deutlich steiler, was einen schnellen Durchfluß dieser Substanz durch die Cutis bedeutet.

4) Polyäthylenglykosalbe (DAB 7)

a. Werden zu einer 0,1 % Fluorofomylon-Polyäthylenglykosalbe 0,1 % 4-Chlortestosteronacetat zugesetzt, so zeigen sich zusatzunabhängig bei 10 und 30 min die gleichen Hornschichtverteilungskurven. Dagegen sind ab 100 min Penetrationszeit die Verteilungskurven durch den Zusatz leicht abgeflacht. Bei 300 und 1000 min deutet sich sogar eine Gleichverteilung des Substanzgemisches in den tieferen Hornschichtlagen an.

b.

und c. Erst der Zusatz von 4-Chlortestosteronacetat zu Fluoroformylon in dieser Salbengrundlage ermöglicht ein Eindringen des Fluoroformylons in Epidemis und Cutis bei 300 und 1000 min Einwirkungszeit. Während sich in der Epidemiskurve ab 50μ Schichttiefe bei beiden Penetrationszeiten eine Gleichverteilung der Substanz andeutet, liegt in der gesamten Cutis keine gleichmäßige Substanzanreicherung vor.

D. Vehikelabhängige Penetrationskinetik in Abhängigkeit von der Steigung der Hornschichtverteilungskurven der Substanzen

Das Maß für die Anreicherung der Substanz in der Hornschicht stellt der lineare Abfall der logarithmischen Hornschichtverteilungskurven dar. Die Abb. 23 - 32 zeigen jeweils den $\tan \alpha$ (α = Steigungswinkel der Hornschichtverteilungskurven) pro Hornschichtabrieb zu den entsprechenden Penetrationszeiten. Stellvertretend werden die Bilder für Fluoroformylon in allen 4, für 4-Chlortestosteronacetat und den Substanzgemischen in jeweils 2 Salbengrundlagen dargestellt.

Werden die Verläufe der Fluoroformylonkurven mit denen des 4-Chlortestosteronacetats verglichen, so zeigen sich bei den Einphasensalben Vaseline und Polyäthylenglykosalbe als Vehikel nur quantitative Unterschiede zwischen der Verteilung beider Substanzen in der Hornschicht. Sind die Substanzen in Mehrphasensalben (wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe und hydrophile Salbe) als Träger eingearbeitet, so deuten die Fluoroformylan- und 4-Chlortestosteronacetatkurven nicht nur auf quantitative sondern auch auf qualitative Unterschiede hin, wie sie sich auch in den verschiedenartigen Kurvenverläufen der Abb. 24, 26, 28, 30 dieser Grundlagen ausdrücken.

Die Verteilung von Fluoroformylon in der Hornschicht erfährt durch den Zusatz von 4-Chlortestosteronacetat nur eine quantitative Veränderung d.h. eine Änderung des Verhältnisses der Affinität zur Grundlage bzw. zur Hornschicht.

Umgekehrt bewirkt ein Zusatz von Fluoroformylon zu 4-Chlortestosteronacetat bei den Einphasensalben als Grundlage ebenfalls nur Quantitätsänderungen im Vergleich zu reiner 4-Chlortestosteronacetatsalbe. Bei Verwendung von wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe sind dagegen leichte und bei der wasserhaltigen hydrophilen Salbe deutliche qualitative Veränderungen der Kurvenformen durch den Fluoroformylonzusatz zu sehen (Abb. 25, 29).

E. Vehikelabhängige Penetrationskinetik in Epidermis und Cutis

Die Abhängigkeit der wiedergefundenen Aktivität von der Penetrationszeit innerhalb eines Gewebebereiches von $1 \text{ cm}^2 \cdot 10 \mu$ in einer Schichttiefe von 85μ - als "Repräsentant" für die Epidermis - und 520μ - für die Cutis - sollen die Abbildungen 13 - 22 zeigen. Der 85μ Wert wurde als Mittelwert von 4 Hautschnitten $6 \cdot 10 \mu$ Dicke zwischen 70 und 100μ Schichttiefe errechnet, der 520μ Wert gibt den Mittelwert dreier 40μ Schnitte zwischen 480 und 560μ Schichttiefe bezogen auf 10μ Schichtdicke an. Die Kinetik von 4-Chlortestosteronacetat und Fluoroformylon, sowie ihre gegenseitige Beeinflussung innerhalb der Epidermis und Cutis können an Hand dieser Abbildungen in Abhängigkeit von den vier verschiedenen Salbengrundlagen, in denen diese Substanzen eingearbeitet sind, verfolgt werden.

Als Beispiel werden die Kinetikkurven von 4-Chlortestosteronacetat in allen vier, von Fluoroformylon und den Substanzgemischen in jeweils zwei Vehikeln abgebildet.

1) Vehikel: weißes Vaseline (DAB 7)

4-Chlortestosteronacetat erreicht im Vehikel Vaseline kein "steady state" und keinen Proportionalitätsbereich innerhalb von 10 - 1000 min in Epidermis und Cutis (Abb. 13). Ein steady state bedeutet, daß der Zustrom von Substanzen innerhalb der Epidermis oder Cutis von höheren Hautschichten und der Abfluß in tiefere Hautschichten gleich ist, was sich in einem horizontalen Kurvenverlauf widerspiegeln müßte.

Ein Zusatz von Fluoroformylon zu 4-Chlortestosteronacetat in dieser Salbengrundlage bewirkt eine deutliche Senkung des Aktivitätsbereichs bei 300 und 1000 min. Es scheint sich sogar, zwischen 300 und 1000 min durch Fluoroformylonzusatz ein Gleichgewicht zwischen Zustrom (innerhalb der Epidermis oder Cutis) von aussen und Abfluß nach innen einzustellen (steady state).

Fluoroformylon dringt über den gesamten Zeitverlauf nicht in die Epidermis und Cutis ein, deshalb konnte auch keine Penetrationskinetikkurve aufgestellt werden. Ein Zusatz von 4-Chlortestosteronacetat zu Fluoroformylon bedingt nun eine Penetration des Fluoroformylons in die Epidermis und Cutis. Das Bild zeigt daher denselben Kurvenverlauf wie das der 4-Chlortestosteronacetatsalbe mit Fluoroformylon. Auch hier liegt also ein steady state zwischen 300 und 1000 min vor.

2) Vehikel: wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe (DAB 7)

Bei Einarbeitung des 4-Chlortestosteronacetats in wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe zeigt die Kinetikkurve bis 300 min dasselbe Bild wie bei 4-Chlortestosteronacetat in Vaseline als Grundlage. Im weiteren Zeitverlauf erfolgt aber keine so starke Penetration mehr wie dort, sondern ab 1000 min deutet sich eher ein steady state an (Abb. 14).

Ein Fluorofomylonzusatz zu 4-Chlortestosteronacetat läßt besonders bei der Epidermis, aber auch schwächer angedeutet bei der Cutis, die Kurven zwischen 300 und 1000 min Penetrationszeit abfallen (Abb. 15).

Ebenso wie bei Vaseline als Vehikel findet auch bei Fluorofomylon allein kaum eine Penetration statt (Abb. 16). Erst der 4-Chlortestosteronacetatzusatz ermöglicht ein sichtbares Eindringen in die Epidermis und Cutis (Abb. 17). Die Kurven zeigen denselben Verlauf wie die 4-Chlortestosteronacetatkurven mit Fluorofomylonzusatz (Abb. 15), nur auf einem niedrigeren Aktivitätsniveau.

3) Vehikel: wasserhaltige hydrophile Salbe (DAB 7)

Wird 4-Chlortestosteronacetat innerhalb einer wasserhaltigen hydrophilen Salbe beim Eindringen in die Haut während verschiedener Penetrationszeiten beobachtet, stellt sich bei der Epidermiskurve ein steady state schon nach 300 min, bei der Cutiskurve nach ca. 700 min ein (Abb. 18). Ein Zusatz von Fluorofomylon zu 4-Chlortestosteronacetat bedingt, daß die Penetration erheblich geringer ist und daß die Einstellung eines steady state verhindert wird. Die Substanz dringt ab 100 min ständig linear ansteigend in Epidermis und Cutis ein (Abb. 19). Bei dieser Salbengrundlage zeigt auch Fluorofomylon allein eine Kinetikkurve für Epidermis und Cutis (Abb. 20). Ihr Verlauf gleicht dem zuletzt Genannten. Ein 4-Chlortestosteronacetatzusatz zu Fluorofomylon passt die Kurvenverläufe mehr den 4-Chlortestosteronacetatkurven an (Abb. 21).

4) Vehikel: Polyäthylenglykosalbe (DAB 7)

In der Salbengrundlage Polyäthylenglykosalbe erreicht 4-Chlortestosteronacetat nach 30 min einen gleichmäßigen Verteilungszustand (steady state), der nach 300 min wieder durchbrochen wird. Dann dringt die Substanz ohne Gleichverteilung in Epidermis und Cutis in größeren Mengen ein,

und die Epidermis- und Cutiskurven streben auseinander (Abb. 22). Ein Fluoroformylonzusatz zu 4-Chlortestosteronacetat in diesem Vehikel verhindert einen steady state zwischen 30 und 300 min Einwirkungszeit, das Auseinanderstreben beider Kurven tritt jedoch auch wieder nach 300 min auf.

Bei Fluoroformylon allein in dieser Grundlage liegt keine Penetration in die Haut vor. Hingegen sorgt ein 4-Chlortestosteronacetatzusatz für eine leichte Penetrationsverbesserung, so daß ab 100 min ein kleiner Anstieg zu verzeichnen ist.

F. Bestimmung der anhaftenden Gewebemenge

Die Abbildungen 33 - 38 geben darüber Aufschluß, inwieweit die Verteilung der Substanzen in der Hornschicht von der Salbengrundlage abhängig ist. Zum einen wurde die Menge des anhaftenden Hornmaterials, zum anderen die Radioaktivität einer über ein definiertes Zeitintervall in der Hornschicht verteilten Substanzen bestimmt. Auch hier soll wiederum nur eine bestimmte Auswahl von typischen Abbildungen gezeigt werden.

1) Absolute Aktivität ($\text{dpm} \cdot \text{cm}^{-2}$) pro Abriß

Bei der Inkorporierung der Substanz in Polyäthylenglykol, wasserhaltiger hydrophiler und Wollwachsalkoholsalbe (als Beispiel sei Abb. 38 gezeigt) ähneln sich die Abbildungen. Sie stellen einen linearen Zusammenhang zwischen der gemessenen Aktivität und der Zahl der Abrisse dar. Ein steiler Kurvenabfall von über $10^5 \text{ dpm} \cdot \text{cm}^{-2}$, der sich ab dem 9. - 11. Abriß auf eine Gleichverteilung der Aktivität von $2 \cdot 10^3 \text{ dpm} \cdot \text{cm}^{-2}$ einpendelt.

Bei Vaseline als Salbengrundlage fällt die Kurve, die auf einem niedrigeren Aktivitätsniveau von $4 \cdot 10^4 \text{ dpm} \cdot \text{cm}^{-2}$ beginnt, bis zum 4. Abriß steil ab, während sich vom 7. Abriß ein horizontaler Kurvenverlauf einstellt.

2) Verhalten der Hornschichtlagen

Die Abbildungen 35 - 37 ($\text{dpm} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{mg}^{-1}$) belegen, daß die oberen Lagen mehr Substanz als die tieferen aufzunehmen vermögen.

Bei Polyäthylenglykol-, wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe und weißer Vaseline als Vehikel wird die an jedem Abriß anhaftende Gewebemenge vom 2. - 11. Hornschichtabriß stetig geringer (Abb. 35, 37). Es stellt sich ein linearer Abfall der aus dem Verhältnis von anhaftender Menge zur Abrißzahl gebildeten Kurve ein. Bei Polyäthylenglykol und wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe bleibt vom 11. Abriß die anhaftende Gewebemenge pro Abriß annähernd konstant, während dies beim Vehikel Vaseline in den tieferen Lagen der Hornschicht nicht zu beobachten ist.

Die Ö/W Emulsion (wasserhaltige hydrophile Salbe) bewirkt nach anfangs steilem Abfall vom 3. Abriß an bis in die Tiefe der Hornschicht noch geringfügige Abnahme der anhaftenden Gewebemenge.

In allen vier Vehikeln fällt die Kurve zunächst bis zum sechsten Abriß ab. Anschließend zeigt sie in den Vehikeln Vaseline und wasserhaltige hydrophile Salbe einen stärker, bei den Grundlagen Polyäthylenglykol- und wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe einen etwas weniger ausgeprägten konstanten Verlauf in Abhängigkeit von der Materialmenge der Hornschicht.

G. Bilanzierung des Aktivitätsverbleibs

Die Tabellen 13 und 14 demonstrieren eine Bilanzierung des Aktivitätsverbleibs für das gesamte Versuchsprogramm, dargestellt am Beispiel des Fluoroformylons in allen vier galenischen Zubereitungen bei einer Penetrationszeit von 100 min. Bei Tabelle 13 beziehen sich die wiedergefundenen Aktivitäten auf die insgesamt aufgetragene Aktivitätsmenge, so daß hier auch ein eventueller "Aktivitätsverlust" mit eingeht, während bei Tabelle 14 der Bezugspunkt die insgesamt wiedergefundene Aktivität ist.

In diesem Beispiel wird die meiste Aktivität in der Hornschicht und in den Wattebüschen, mit denen die Hornschicht vor dem Strippen abgewischt wurde, wiedergefunden. Die Bilanz ändert sich natürlich bei einer besser penetrierenden Substanz und einer längeren Einwirkungszeit zugunsten des Anteils in den tieferen Hautschichten.

H. Verteilungskoeffizient

Mit den Tabellen 15a und 15b sollen der Verteilungskoeffizient der beiden markierten Substanzen oder ihrer Substanzgemische zwischen der wässrigen und lipophilen Phase dargestellt werden. Der größte Teil des 4-Chlortestosteronacetats, 4-Chlortestosteronacetats mit Fluoroformylonzusatz, des Fluoroformylons mit 4-Chlortestosteronacetatzusatz reichert sich in der lipophilen Phase an. Das unpolare 4-Chlortestosteronacetat übertrifft hierbei deutlich das polare Fluoroformylon. Ein Zusatz von 4-Chlortestosteronacetat zu Fluoroformylon steigert die Anreicherung des Fluoroformylons in der lipophilen Phase geringfügig. Ein Fluoroformylonzusatz zum 4-Chlortestosteronacetat ändert an der hohen Anreicherung des 4-Chlortestosteronacetats in der lipophilen Phase nichts.

Diskussion

Im Sinne der Einleitung interessierte bei den vorliegenden Untersuchungen vor allem:

Welche Mengen von therapeutisch wirksamen Substanzen gelangen in die lebenden Schichten der Haut und können damit effektiv werden?

Welche Widerstände haben sie bis dorthin zu überwinden?

In welcher Zeit dringen sie in die Tiefe ein und wie lange verbleiben sie dort?

Wie sind diese Parameter von außen - z.B. durch Wahl der Grundlage - beeinflussbar?

Die dargestellten Ergebnisse lassen folgende Aussagen zu:

Ein großer Teil einer auf die menschliche Haut aufgetragenen Salbenmenge bleibt auf der Hornschichtoberfläche liegen und ist abwischbar. Erwartungsgemäß zeigt der Vergleich von 100 min zu 1000 min Penetrationszeit (Tab. 16a, b), daß mit zunehmender Penetrationszeit mehr Aktivität in die tieferen Lagen der Haut eindringt. Das weniger polare Steroid 4-Chlortestosteronacetat ist in den galenischen Zubereitungen stärker von der Haut abwischbar als das etwas polarere Steroid Fluorofomylon.

Die angeführten Polaritätsverhältnisse sind aus Tabelle 15 zu ersehen, während die Veränderung der Verteilungskoeffizienten durch die Kombination zweier Substanzen weiter unten diskutiert wird.

Ein weiterer wesentlicher Anteil dringt dennoch in die Hornschicht ein (s. Tab. 16a, b), die Konzentration bleibt dort über längere Zeit im Vergleich zu den tieferen Lagen hoch und stellt damit ein Reservoir für den Transport in die tieferen Schichten der Haut dar. Die von mehreren Autoren

(16, 17) diskutierte Barriere und Reservoirfunktion der Hornschicht läßt sich leichter differenzieren, wenn absolute Aktivitäten in Relation zur Menge des durch Tesafilmabriß gewonnen Hornschichtmaterials gesetzt werden, in dem die Aktivität bestimmt wurde (Abb. 33 - 38). Bei unterschiedlichem Verhalten in den oberen Hornschichtlagen bleibt nach Auftragen der vier verschiedenen Salbengrundlagen die Aktivität der hier eingebetteten Substanz pro mg Hornschichtmaterial im Bereich der letzten drei Abrisse vor Erreichen der obersten Zellagen der Epidermis konstant, so daß hieraus geschlossen werden kann, daß die Grundlage in den tiefen Lagen der Hornschicht nur noch geringen Einfluß auf die Substanzverteilung ausübt, eine Gleichverteilung erreicht ist und die Hornschichtlagen in der Tiefe kompakter angeordnet sind.

Ein ähnliches Verhalten zeigen auch die absoluten Aktivitäten ($\text{dpm} \cdot \text{cm}^{-2}$) Hautoberfläche je Abriß. Es besteht kein eindeutiger Zusammenhang zwischen der am Tesafilm anhaftenden Menge des Hornschichtmaterials und der Aktivität. Dagegen hat die Schichttiefe der Hornschicht einen erheblichen Einfluß auf die Aktivitätsverteilung. In den obersten Lagen wird stets eine hohe Aktivitätsmenge gefunden, die nach unten mehr oder minder steil abnimmt, um in den tieferen Lagen relativ konstant zu bleiben.

Mit Ausnahme von Vaseline als Vehikel hat die Menge des anhaftenden Materials kaum einen Einfluß auf die Verteilung der Substanz. Die anhaftende Menge in mg ist bei den ersten zwei Abrisse noch ziemlich hoch; sie beträgt insgesamt das Doppelte vom Mittelwert aller restlichen Abrisse. Die Verteilung der Aktivität in der Hornschicht verläuft jedoch mit $1\frac{1}{2}$ Zehnerpotenzen der dpm über einen wesentlich größeren Dimensionsbereich, so daß die verschieden große anhaftende Menge Hornschichtmaterials am Tesafilm kaum einen Einfluß auf den Kurvenverlauf der Aktivität pro mg Hornschicht ($\text{dpm} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{mg}^{-1}$) hat.

Die Summe der allen Hornschichtabrisse anhaftenden Materialmenge ist für jede Salbengrundlage annähernd gleich, so daß eine durch die Grundlage bedingte Veränderung der Klebekraft des Tesafilms vernachlässigt werden kann. Somit sind deutlich sichtbare Veränderungen in der graphischen Darstellung der anhaftenden Menge an Hornschichtmaterial, die einerseits in der vom Vehikel beeinflussten veränderten Klebekraft des Tesafilms bestehen können, andererseits auf einer Auflockerung der Hornschicht beruhen können, für die resultierende Penetrationskurve - ausgedrückt in Aktivität pro Materialmenge - bedeutungslos.

Die Möglichkeit einer Auflockerung der Hornschicht und einer Einlagerung der Salbengrundlage einschließlich der inkorporierten Substanz in die interlamellären Zwischenräume der obersten Schichten des stratum corneums (stratum disjunctum nach Spier) wird damit wahrscheinlich. Auf den lockeren Strukturaufbau der obersten Hornschichtlagen und vielleicht auf die von den Salben bedingten Auflockerungen durch oben geschilderte Einlagerung ist die verhältnismäßig hohe, am Tesafilm anhaftende Materialmenge, an den ersten Abrissen zurückzuführen. Die hohen Aktivitätswerte dieser Abrisse weisen ebenfalls auf eine Speicherung der in die Salbengrundlagen eingearbeiteten Substanzen hin.

Da die Aktivität pro mg anhaftendem Material etwa vom 7. Abriß konstant bleibt, ist zu schließen, daß diese Zwischenräume dort klein oder aufgehen sind. Die Hornschicht stellt demnach nur in den oberen Lagen ein deutliches Reservoir für lokal applizierte Arzneimittel dar, die tieferen Lagen haben vorwiegend eine Barrierefunktion für die Penetration solcher Substanzen.

Hohe Konzentrationen an der Oberfläche, niedrige Konzentration in der Tiefe und damit geringes Substanzangebot für die Weiterpenetration in die Epidermis verdeutlichen die steilen Kurven der Abhängigkeit der Aktivität im logarithmischen Maßstab von der Abrißzahl. Hierbei liegt ein starker Konzentrationsgradient in Bezug auf die einzelnen Hornschichtlagen vor.

Flachere Kurven dagegen deuten auf den gegenteiligen Sachverhalt: mäßige Reservoirbildung im stratum disjunctum und schwächere Barrierefunktion in den tiefen Lagen des stratum compactum. In gewissen Fällen ist es denkbar, daß die hohe Affinität einer Substanz zur Hornschicht eine annähernde Gleichverteilung in den einzelnen Schichten in Form einer relativ flachen Kurve hervorruft und in einem solchen Fall trotz flacher Kurve wenig Substanz in die Tiefe weiterpenetrieren kann.

Die Neigung der Kurven bzw. die daraus resultierende Verteilung der Aktivität in der Hornschicht während der verschiedenen Penetrationszeiten kann als Tangens der Steigungswinkel dargestellt werden (Abb. 23 - 32).

Diese Kurvenverläufe deuten darauf hin, daß zum Anfang der Penetration die Substanz schneller aus der Grundlage an die Hornschichtoberfläche als von der Oberfläche in die Tiefe diffundiert.

Der hohe Tangenswert bei kurzen Penetrationszeiten zeigt, daß zunächst Aktivität fast nur an der Hornschichtoberfläche zu finden ist. Nach ungefähr 100 min Penetrationszeit kehrt sich der Vorgang der Anreicherung von Substanz an der Oberfläche um, indem jetzt die Abdiffusion von den oberen in die tiefen Hornschichtlagen einsetzt. Inzwischen hat sich das Hornschichtreservoir gebildet und die beiden Vorgänge - Diffusion der Substanz aus der Salbengrundlage in die Hornschichtoberfläche und Abdiffusion in die Tiefe - pendeln sich ein.

Das Maximum dieser Kurven wird bei Fluorofomylon durchweg früher erreicht: Mit Ausnahme der wasserhaltigen Wollwachsalkoholsalbe als Vehikel liegt es auch höher als bei den Kurven des 4-Chlortestosteronacetats. Dies zeigt deutlich, daß die polarere Substanz Fluorofomylon leichter aus der Grundlage abgegeben wird als das 4-Chlortestosteronacetat.

Am auffälligsten zeigt sich der Einfluß der Polarität auf die Penetration einer Substanz beim Vergleich der Penetration aus verschiedenen Grundlagen. Polyäthylenglykolsalbe behindert wegen seiner guten Lösungseigenschaften einerseits und seiner starken Hydrophilie andererseits die Penetration erheblich, da die Substanz von dieser Grundlage gut gelöst und deshalb nur schlecht abgegeben wird. Theoretisch müßte die - hier weit überhöhte - Sättigungskonzentration der Substanz in der Grundlage hergestellt werden, um den Übergang aus der Grundlage in die Haut zu erzwingen. Der Vergleich der Penetration aus wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe mit der aus wasserhaltiger hydrophilen Salbe, besonders bei 4-Chlortestosteronacetat, zeigt, daß durch verschiedene Einstellungen des Gleichgewichts von hydrophilen und hydrophoben Anteilen einer Salbe die Penetration erheblich beeinflußt werden kann.

Theoretisch ist bei den allgemein unpolaren und damit relativ gut fettlöslichen Steroiden eine stärkere Abgabe der Substanz an die Hornschicht dann zu erwarten, wenn der Wassergehalt in der Grundlage steigt. Dies beruht darauf, daß durch die gleichzeitige Senkung des Fettanteils die Sättigungskonzentration des Steroids in der letzten Phase als günstigste Bedingung für die Abgabe stärker angenähert wird, als wenn die gleiche Konzentration in einer größeren Fettmenge gelöst wird.

Im Falle des 4-Chlortestosteronacetats bestätigen die Ergebnisse diese Überlegungen. Die Penetration aus der hydrophilen Salbe, die 70 % Wasser enthält, ist stärker als die aus der Wollwachsalkoholsalbe mit 50 % Wassergehalt. Hierbei ist einschränkend anzufügen, daß eine strenge Vergleichbarkeit der Salbengrundlagen wegen der unterschiedlichen Zusammensetzung der Fettphase nicht gegeben ist.

Auf Grund seiner Formylgruppe scheint das Fluoroformylon an das Keratin der Hornschicht absorptiv gebunden zu sein und es ist deshalb in weitaus geringerem Maße als 4-Chlortestosteronacetat zu einer Weiterpenetration in die tieferen Hautschichten in der Lage.

Ferner kann gesagt werden, daß die Salbengrundlagen offensichtlich einen entscheidenden Einfluß auf die effektiven Konzentrationen haben, was aus den entsprechenden Tabellen der Absolutwerte hervorgeht. Hier können Unterschiede in den Konzentrationen der Substanz bis zu einer Zehnerpotenz auftreten. Aus diesen Ergebnissen läßt sich vermuten, daß die Auswahl von Salbengrundlagen einen weitaus wichtigeren Einfluß auf die Lokaltherapie hat, als etwa die Verdopplung bis Verzehnfachung der Konzentration eines Arzneimittels in einer ungeeigneten Grundlage. Hierzu muß betont werden, daß die Hornschicht die entscheidene Barriere und gleichzeitig das Reservoir für die Weiterpenetration der Substanz darstellt. Wird also ein Medikament in hoher Konzentration und ungeeignetem Vehikel auf die Haut aufgetragen, deren Hornschichtbarriere noch nicht geschädigt ist, so kann es mangels Überwinden der Barriere unwirksam bleiben. Fehlt dagegen diese Barriere bei einer zerstörten Hornschicht, z.B. bei akuter Dermatose, Verbrennung o.ä. kann es beim Auftragen zu einer maximalen Penetration und deutlichen Resorption kommen. Über die Aufnahme durch das Gefäßsystem werden dann möglicherweise, besonders bei Kindern, hohe Mengen des Externums zu einer unerwünschten Belastung des Gesamtorganismus führen. Diese Gefahr ist bei der Einarbeitung geringer Arzneimittelkonzentrationen in eine optimale Grundlage weit weniger gegeben, d.h. die therapeutische Breite (das Verhältnis von therapeutischer Aktivität zu unerwünschten Effekten) ist entschieden größer.

Das in dieser Arbeit dargestellte Meßverfahren zeigt Möglichkeiten zur Erfassung derartiger Zusammenhänge auf:

Aus den Meßwerten konnten Absolutwerte der Konzentration von pharmakologisch aktiven Substanzen in den einzelnen Schichten der Haut errechnet und damit Beziehungen zu bekannten pharmakologischen Daten hergestellt werden. Gleichzeitig war es auf diesem Wege möglich, Fragen wie beispielsweise die Einwirkung von Steroiden in den Zellmetabolismus zu diskutieren, da auf der molekularbiologischen Ebene nur physiologische bzw. pharmakologische Effekte zum Tragen kommen, wenn die notwendige Schwelendosis erreicht wird. Die Bedeutung derartiger Penetrationswerte wird besonders dann deutlich, wenn die therapeutische Wirksamkeit eines in seiner Penetration zu untersuchenden Medikaments gesichert ist, weil somit Aussagemöglichkeiten für die Beurteilung der Effektivität für die Haut gegeben sind.

Eines der wesentlichen Ergebnisse ist, daß sich zwei Steroide in ihrer gleichzeitigen Penetration erheblich beeinflussen können. Auf Grund der vorliegenden Untersuchungen kann nicht ausgeschlossen werden, daß beide Steroide eine komplexartige Verbindung in Form eines Addukts eingehen können. Folgende Ergebnisse sprechen für diese Hypothese:

1. Der Verteilungskoeffizient (Tab. 15b) ändert sich, wenn die Substanzen zusammengegeben werden. Da aber nach dem Henry-Dalton'schen Gesetz die Konzentration einer Substanz in zwei Phasen unabhängig von der Anwesenheit einer zweiten, nicht reagierenden Substanz ist, kann umgekehrt von der Veränderung der Verteilungskoeffizienten auf eine Reaktion zwischen den Substanzen geschlossen werden.
2. Die unterschiedliche Penetration von 4-Chlortestosteronacetat im Vergleich zu Fluorofornylon in die Epidermis weist daraufhin, daß jede Substanz zunächst eine von ihrer jeweiligen chemischen Konstitution und ihrem Ladungszustand abhängige eigene Penetrationskinetik im Gewebe besitzt, die nicht mit der Penetrationskinetik einer anderen Substanz vergleichbar ist.

3. Werden die Kinetikkurven der Konzentrationsverhältnisse zwischen bestimmten Schichttiefen der Epidermis und denen der Cutis verglichen, so zeigt sich eine fast völlig fehlende Penetration von Fluoroformylon.
4. Durch den Zusatz von Fluoroformylon kommt es zu einer stärkeren Anreicherung des 4-Chlortestosteronacetats in der Hornschicht.
5. Eine Penetration von Fluoroformylon wird eigentlich erst in geringem Maß durch die Kombination mit 4-Chlortestosteronacetat ermöglicht.
6. Dagegen wird die deutliche Penetration von 4-Chlortestosteronacetat durch einen Fluoroformylonzusatz etwas abgeschwächt.

Die substanztypischen Penetrationskinetiken zweier in ihrer Penetrationskinetik grundverschiedenen Verbindungen werden durch die Kombination völlig verändert. Dies gilt nicht nur für die momentanen Konzentrationen zu einem gegebenen Zeitpunkt in den verschiedenen Schichten, es wird vielmehr auch die zeitliche Penetrationskinetik durch die Kombination der Steroide verändert. So zeigt 4-Chlortestosteronacetat als Einzelsubstanz Kurvenverläufe, die andeuten, daß auch nach 1000 min Einwirkzeit das Penetrationsmaximum noch nicht erreicht ist. Dagegen ergibt sich bei der Kombination für 4-Chlortestosteronacetat ein Penetrationsmaximum bei ca. 300 min. Anschließend fallen die Konzentrationen wieder ab. Dieser Effekt kann nicht allein als Folge von struktureller Veränderung in der Epidermis durch ein Steroid gedeutet werden, die anschließend die Penetration eines anderen Steroids verändern würde. Es ist vielmehr anzunehmen, daß eine chemische Veränderung in Form einer Adduktbildung stattgefunden hat, da unabhängig von den beiden Kinetiken für das Fluoroformylon und das 4-Chlortestosteronacetat eine dritte wiederum für sich typische Penetrationskinetik der Kombination ermittelt wurde. Die Deutung einer möglichen Adduktbildung wird dadurch bestätigt, daß die Kombinationskurven - gleichgültig, welche der beiden Substanzen markiert waren - dieselben Kurvenverläufe ergeben.

Nach diesen Ergebnissen wäre es also nicht ohne weiteres zulässig, zu einer in ihrem pharmakologischen Eigenschaften bekannten Substanz eine weitere hinzuzufügen unter der Annahme, daß dadurch die Wirkungsqualität der ersten Substanz nur unwesentlich beeinflusst wird.

Vielmehr müßten in Fällen von Kombinationen die Penetrationskinetiken der einzelnen Substanzen getrennt und gemischt untersucht werden, da die Ergebnisse daraufhinweisen, daß nicht nur quantitative, sondern, in Bezug auf die therapeutische Aktivität, auch qualitative Veränderungen durch Substanzkombinationen denkbar sind.

Zusammenfassung

Zwei Steroide, 4-Chlortestosteronacetat und Fluroformylon sowie ihre gegenseitigen Kombinationen wurden hinsichtlich ihrer Penetrationskinetik in den verschiedenen Hautschichten in Abhängigkeit von verschiedenen Salbengrundlagen *in vitro* untersucht.

Radiomarkiertes 4-Chlortestosteronacetat und Fluroformylon wurden dazu jeweils in eine 0,1 % ige Salbe von Salbengrundlagen des Deutschen Arzneibuches (DAB 7) (weißes Vaseline, wasserhaltige Wollwachsalkohol-salbe, wasserhaltige hydrophile Salbe und Polyäthylenglykolsalbe) eingearbeitet und auf excidierte menschliche Haut aufgetragen.

Die Haut wurde 10, 30, 100, 300 und 1000 Minuten in einer temperierten Penetrationskammer belassen. Anschließend wurde mit Hilfe des Liquid-Scintillationsverfahrens die Aktivität in der Hornschicht (Tesa-filmabrisse), Epidermis (10 μ Horizontalschnitte) und Cutis (40 μ Horizontalschnitte) bestimmt.

Aus den Meßwerten (Aktivitäten) wurden Absolutwerte der Konzentrationen der pharmakologisch aktiven Substanzen in den einzelnen Schichten errechnet.

Die Salbengrundlagen haben offensichtlich einen bestimmenden Einfluß auf die effektiven Konzentrationen lokal aufgetragener Arzneimittel; sie können Konzentrationsunterschiede der Substanz bis zur Größe einer Zehnerpotenz bewirken.

Die Hornschicht stellt für lokal applizierte Medikamente die entscheidende Barriere für die Weiterpenetration in die tieferen Hautschichten dar. Die Penetration in die Epidermis und Cutis hängt nun zunächst vom Verhalten

der Substanzen in der Hornschicht ab. Die in die Epidermis und Cutis diffundierte Menge ist im Zeitverlauf, neben der oben erwähnten Beeinflussung durch das Vehikel, weiterhin deutlich substanzabhängig: Fluoroformylon verbleibt *in vitro* so gut wie vollständig in der Hornschicht, während das nah verwandte Steroid 4-Chlortestosteronacetat in verhältnismäßig großen Mengen tiefer in die Haut eindringt.

Die unterschiedliche Penetration von 4-Chlortestosteronacetat im Vergleich zu Fluoroformylon in die Epidermis und Cutis weist darauf hin, daß jede Substanz zunächst eine von ihrer jeweiligen chemischen Konstitution und ihrem Ladungszustand abhängige eigene Penetrationskinetik im Gewebe besitzt, die nicht mit der Penetrationskinetik einer anderen Substanz vergleichbar ist.

Die substanztypischen Penetrationskinetiken grundverschiedener Verbindungen wurden durch die Kombination beider Substanzen so miteinander verändert, daß eine dritte wiederum für sich typische Penetrationskinetik der Kombinationen ermittelt wurde.

Auf Grund dieses Verhaltens und des Verteilungskoeffizienten muß angenommen werden, daß beide Steroide eine komplexartige Verbindung in Form eines Addukts eingehen können.

Literatur

1. Deutsches Arzneibuch 7. Ausgabe 1968
Govi Verlag GmbH, Frankfurt
2. Brode, E.
Die percutane Resorption von Corticosteroiden
Die Arzneimittelforschung 18, 580 - 585 (1968)
3. Feldmann, R.I. und H.I. Maibach
Absorption of Some Organic Compounds through the Skin in Man
Vol. 54, Nr. 5 (1970)
4. Idson, B.
Topical anti-inflammatory drugs
American perfumer and Cosmetics Vol 81, Oct., p. 66
5. Mc Kenzie, A.W. and R.B. Stoughton
Method for Comparing Percutaneous Absorption of Steroids.
Arch.Derm. 86, 608 - 610 (1962)
6. Kolb, K.H. und P.E. Schulze
Über die cutane Penetration von Sexualsteroidhormonen
Sym.Dtsch.Ges. Endokrinol. 17, 49 - 56 (1971)
7. Pinkus, H.
Examination of the Epidermis by the strip method of removing horny layers
J.invest.Derm. 16, 383 - 386 (1951)

8. Pinkus, H.

Examination of the epidermis by the strip method

II. Biometric data on regeneration of the human epidermis

J.invest.Derm. 19 (1952) 431 - 447

9. Sarkany, I., I.W. Hadgraft, C.A. Caron and C.W. Barrett

The Role of Vehicles in the Percutaneous Absorption of Corticosteroids

Brit.J.Derm. 77 (1965) 569 - 575

10. Schaefer, H. und K. Wolter

Permeation von Staubpartikeln in die Haut

Vortrag anl. der Jahrestagung d. Dtsch.Gesellsch.f. Arbeitsmedizin
in Dortmund, Okt. 1972

11. Stüttgen, G.

Vortr. anl. der europäischen Tagung für Allergologie in Berlin, Okt. 1968

12. Stüttgen, G. und H. Krause

Die percutane Absorption von tritiummarkiertem Panthenol bei Mensch
und Tier

Arch.klin.exp.Derm. 209 (1960) 578

13. Stüttgen, G.

Die Haut als Resorptionsorgan in pharmakokinetischer Sicht

Arzneimittelforschung 22 (1972) 324

14. Winkler, K.

Elimination und Resorption von markiertem Fluocortilon und Fluocortolonecapronat

Zschr.Haut-Gesch.-Krkh. 43 (1968) Heft 6

15. Wolf, I.

Das Oberflächenrelief der menschlichen Haut

Z.mikr.-anat. Forschung 47 (1940) 351

16. Zesch, A., H. Schaefer, W.-D. Hoffmann

Barriere und Reservoirfunktion der einzelnen Hornschichtlagen der menschlichen Haut für lokal aufgetragene Arzneimittel

Arch.Derm.Forsch. 246 (1973) 103 - 107

17. Zesch, A., W.-D. Hoffmann und H. Schaefer

Verteilung eines radiomarkierten Pharmakons in der menschlichen Hornschicht aus vier Salbengrundlagen

Die Pharmazie, im Druck

Penetrationszeit in min.	10	30	100	300	1000
³ H-4 Chlortestosteron- acetat 0,1 %	99,47	99,41	98,22	82,76	65,22
³ H-4 Chlortestosteron- acetat 0,1 % mit Fluoroformylon 0,1 %	100,00	96,67	99,17	94,76	96,51
³ H-Fluoroformylon 0,1 % mit 4 Chlortestosteron- acetat 0,1 %	99,76	99,94	98,56	92,91	93,73
³ H-Fluoroformylon 0,1 %	99,24	99,96	98,67	97,18	86,52

Tabelle 1:

Hornschnittanteil in % der insgesamt wiedergefundenen Aktivität bei 4 Chlortestosteronacetat, Fluoroformylon und ihren Substanzgemischen (Salbengrundlage weisse Vaseline)

Penetrationszeit in min.	10	30	100	300	1000
³ H-4 Chlortestosteron- acetat 0,1 %	96,72	99,91	93,80	91,74	79,19
³ H-4Chlortestosteron- acetat 0,1 % mit Fluoroformylon 0,1 %	99,93	99,76	99,90	94,47	94,74
³ H-Fluoroformylon 0,1 % mit 4 Chlortestosteron- acetat 0,1 %	99,76	99,24	98,94	95,67	94,83
³ H-Fluoroformylon 0,1 %	99,98	99,79	99,03	97,45	90,48

Tabelle 2

Hornschnittanteil in % der insgesamt wiedergefundenen Aktivität bei 4 Chlortestosteronacetat, Fluoroformylon und ihren Substanzgemischen (Salbengrundlage: wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe).

Tabelle 3

Hornschnittanteil in % der insgesamt wiedergefundenen Aktivität bei 4 Chlortestosteronacetat, Fluoroformylon und ihren Substanzgemischen (Salbengrundlage: wasserhaltige hydrophile Salbe).

Penetrationszeit in min.	10	30	100	300	1000
³ H-4 Chlortestosteronacetat 0,1 %	99,36	99,87	95,37	84,72	59,42
³ H-4 Chlortestosteronacetat 0,1 % mit Fluoroformylon 0,1 %	100,00	100,00	99,69	99,89	97,19
³ H-Fluoroformylon 0,1 % mit 4 Chlortestosteronacetat 0,1 %	99,53	99,98	98,77	96,34	96,27
³ H-Fluoroformylon 0,1 %	99,38	99,87	98,98	98,19	91,15

Tabelle 4

Hornschnittanteil in % der insgesamt wiedergefundenen Aktivität bei 4 Chlortestosteronacetat, Fluoroformylon und ihren Substanzgemischen (Salbengrundlage: Polyäthylenglykosalbe)

Penetrationszeit in min.	10	30	100	300	1000
³ H-4 Chlortestosteronacetat 0,1 %	96,41	99,29	99,92	97,76	81,79
³ H-4 Chlortestosteronacetat 0,1 % mit Fluoroformylon 0,1 %	99,67	98,03	99,80	98,86	93,23
³ H-Fluoroformylon 0,1 % mit 4 Chlortestosteronacetat 0,1 %	99,89	99,55	99,55	97,95	95,98
³ H-Fluoroformylon 0,1 %	99,96	99,36	99,58	98,60	92,80

Tabelle 5

In die Epidermis penetrierte Menge in % der Hornschichtaktivität (Salbengrundlage: weisse Vaseline)

Penetrationszeit in min.	10	30	100	300	1000
³ H-4 Chlortestosteron- acetat 0,1 %	0,32	0,42	1,26	8,15	16,47
³ H-4 Chlortestosteron- acetat 0,1 % mit Fluorofomylon 0,1 %	0,00	3,01	0,68	2,30	0,87
³ H-Fluorofomylon 0,1 % mit 4 Chlortestosteron- acetat 0,1 %	0,00	0,00	0,14	3,51	1,66
³ H-Fluorofomylon 0,1 %	0,08	0,00	0,11	0,00	1,51

Tabelle 6

In die Epidermis penetrierte Menge in % der Hornschichtaktivität (Salbengrundlage: wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe)

Penetrationszeit in min.	10	30	100	300	1000
³ H-4 Chlortestosteron- acetat 0,1 %	2,06	0,00	1,24	3,24	9,31
³ H-4 Chlortestosteron- acetat 0,1 % mit Fluorofomylon	0,06	0,00	0,03	3,02	0,84
³ H-Fluorofomylon 0,1 % mit 4 Chlortestosteron- acetat 0,1 %	0,19	0,45	0,09	1,61	1,31
³ H-Fluorofomylon 0,1 %	0,00	0,13	0,09	0,00	0,47

Tabelle 7

In die Epidermis penetrierte Menge in % der Hornschichtaktivität (Salbengrundlage: wasserhaltige hydrophile Salbe)

Penetrationszeit in min.	10	30	100	300	1000
³ H-4 Chlortestosteron-acetat 0,1 %	0,08	0,07	1,57	5,74	26,37
³ H-4 Chlortestosteron-acetat 0,1 % mit Fluoroformylon 0,1 %	0,00	0,00	0,25	0,07	0,47
³ H-Fluoroformylon 0,1 % mit 4 Chlortestosteron-acetat 0,1 %	0,06	0,02	0,09	1,40	0,39
³ H-Fluoroformylon 0,1 %	0,62	0,08	0,22	0,04	0,37

Tabelle 8

In die Epidermis penetrierte Menge in % der Hornschichtaktivität (Salbengrundlage: Polyäthylenglykosalbe)

Penetrationszeit in min.	10	30	100	300	1000
³ H-4 Chlortestosteron-acetat 0,1 %	0,07	0,21	0,00	1,82	14,08
³ H-4 Chlortestosteron-acetat 0,1 % mit Fluoroformylon 0,1 %	0,32	1,17	0,15	0,18	1,05
³ H-Fluoroformylon 0,1 % mit 4 Chlortestosteron-acetat 0,1 %	0,09	0,17	0,02	0,47	0,60
³ H-Fluoroformylon 0,1 %	0,01	0,21	0,13	0,03	0,26

Tabelle 9

In die Cutis penetrierte Menge in % der Hornschichtaktivität (Salbengrundlage: weisse Vaseline)

Penetrationszeit in min.	10	30	100	300	1000
³ H-4 Chlortestosteron-acetat 0,1 %	0,22	0,17	0,44	10,93	28,56
³ H-4 Chlortestosteron-acetat 0,1 % mit Fluoroformylon 0,1 %	0,00	0,37	0,13	2,76	1,68
³ H-Fluoroformylon 0,1 % mit 4 Chlortestosteron-acetat 0,1 %	0,24	0,00	0,73	1,96	1,54
³ H-Fluoroformylon 0,1 %	0,00	0,00	0,15	0,40	0,82

Tabelle 10

In die Cutis penetrierte Menge in % der Hornschichtaktivität (Salbengrundlage: wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe)

Penetrationszeit in min.	10	30	100	300	1000
³ H-4 Chlortestosteron-acetat 0,1 %	1,15	0,00	2,53	5,05	12,98
³ H-4 Chlortestosteron-acetat 0,1 % mit Fluoroformylon 0,1 %	0,00	0,23	0,00	2,44	3,15
³ H-Fluoroformylon 0,1 % mit 4 Chlortestosteron-acetat 0,1 %	0,03	0,00	0,04	1,57	0,56
³ H-Fluoroformylon 0,1 %	0,00	0,00	0,13	0,13	0,66

Tabelle 11

In die Cutis penetrierte Menge in % der Hornschichtaktivität (Salbengrundlage: wasserhaltige hydrophile Salbe)

Penetrationszeit in min.	10	30	100	300	1000
³ H-4 Chlortestosteron-acetat 0,1 %	0,55	0,00	2,89	11,09	17,12
³ H-4 Chlortestosteron-acetat 0,1 % mit Fluoroformylon 0,1 %	0,00	0,00	0,04	0,01	1,32
³ H-Fluoroformylon 0,1 % mit 4 Chlortestosteron-acetat 0,1 %	0,00	0,00	0,37	1,27	0,55
³ H-Fluoroformylon 0,1 %	0,00	0,05	0,31	0,33	0,62

Tabelle 12

In die Cutis penetrierte Menge in % der Hornschichtaktivität (Salbengrundlage: Polyäthylenglykosalbe)

Penetrationszeit in min.	10	30	100	300	1000
³ H-4 Chlortestosteron-acetat 0,1 %	0,14	0,31	0,01	0,32	6,87
³ H-4 Chlortestosteron-acetat 0,1 % mit Fluoroformylon 0,1 %	0,00	0,17	0,03	0,04	2,63
³ H-Fluoroformylon 0,1 % mit 4 Chlortestosteron-acetat 0,1 %	0,02	0,16	0,26	0,47	0,11
³ H-Fluoroformylon 0,1 %	0,01	0,17	0,02	0,05	0,02

Tabelle 13

Prozentuale Verteilung der aufgetragenen Aktivität (H^3 markiertes Fluorofomylon 0,1 % mit 4-Chlortestosteronacetat, Penetrationszeit: 100 min)

	weiße Vaseline	wasserhaltige Wollwachs- alkoholsalbe	wasserhaltige hydrophile Salbe	Polyäthylenglykol- salbe
aufgetragen	100,00 %	100,00 %	100,00 %	100,00 %
abgewischt	57,24 %	34,34 %	31,57 %	60,85 %
Hornschicht	33,09 %	60,47 %	58,52 %	35,69 %
Epidermis	0,05 %	0,05 %	0,05 %	0,01 %
Cutis	0,24 %	0,02 %	0,27 %	0,08 %
Rest	0,10 %	0,20 %	0,27 %	0,00 %
Penetrationskammerwasser	0,33 %	0,49 %	0,13 %	0,12 %
Verlust	8,95 %	4,43 %	9,19 %	3,25 %

Tabelle 14

Prozentuale Verteilung der wiedergefundenen Aktivität (H^3 markiertes Fluorformylon mit 4-Chlortestosteronacetat, Penetrationszeit 100 min)

	weiße Vaseline	wasserhaltige Wollwachs- alkoholsalbe	wasserhaltige hydrophile Salbe	Polyäthylenglykol- Salbe
abgewischt	63,64	36,37	32,57	62,90
Hornschicht	35,54	62,83	66,60	36,86
Epidermis	0,05	0,05	0,05	0,01
Cutis	0,26	0,02	0,32	0,10
Rest	0,14	0,21	0,32	0,00
Penetrationskammerwasser	0,37	0,52	0,14	0,13
gesamt wiedergefundene Menge	100,00	100,00	100,00	100,00

Tabelle 15a

Prozentuale Verteilung des 4-Chlortestosteronacetats und des Fluororomylons
in der lipophilen und wässrigen Phase und Verteilungskoeffizient

Substanz	Prozentuale Verteilung der Substanzen in:		Verteilungskoeffizient P	
	n-Octanol	Wasser	$\frac{C_{\text{Octanol}}}{C_{\text{Wasser}}}$ P	log P
H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %	97,20	2,20	$45,30 \pm 3,5$	1,66
H^3 -Fluorofomylon 0,1 %	84,14	15,86	$5,31 \pm 0,13$	0,73

Tabelle 15b

Prozentuale Verteilung der Substanzgemische in der lipophilen und wässrigen
Phase und Verteilungskoeffizient

Substanzgemisch	Prozentuale Verteilung der Substanzgemische in:		Verteilungskoeffizient P	
	n-Octanol	Wasser	$\frac{C_{\text{Octanol}}}{C_{\text{Wasser}}}$ P	log P
H^3 - 4-Chlortest- osteronacetat 0,1 % mit Fluorofomylon 0,1 %	98,00	2,00	$48,98 \pm 2,8$	1,69
H^3 -Fluorofomylon 0,1 % mit 4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %	79,11	20,89	$3,87 \pm 0,12$	0,59

Tabelle 16a

Vergleich des Aktivitätsverlaufs in Prozent bei 4-Chloroösteronacetat - in allen vier Salbengrundlagen - zwischen 100 und 1000 min Penetrationszeit.

	weiße Vaseline		wasserhaltige Wollwachs- alkoholsalbe		wasserhaltige hydrophile Salbe		Polyäthylenglykol- salbe	
	100	1000	100	1000	100	1000	100	1000 min
abgewischt	74,80	57,27	93,37	64,81	87,56	48,83	76,23	56,26
Hornschicht	24,74	26,62	6,20	26,38	11,38	28,68	23,75	35,46
Epidermis	0,32	4,38	0,08	2,59	0,18	7,56	0,00	4,99
Cutis	0,11	7,61	0,16	3,61	0,34	4,92	0,01	2,44
Penetrationskammerwasser	0,03	3,25	0,02	2,55	0,07	4,93	0,00	0,65
Rest	0,00	0,86	0,17	0,06	0,03	5,08	0,01	0,20

Tabelle 16b

Vergleich des Aktivitätsverbleibs in Prozent bei Fluorformylon - in allen vier Salbengrundlagen - zwischen 100 und 1000 min Penetrationszeit

	weiße Vaseline		wasserhaltige Wollwachs- alkoholsalbe		wasserhaltige hydrophile Salbe		Polyäthylenglykol- salbe	
	100	1000	100	1000	100	1000	100	1000 min
abgewischt	38,31	51,06	72,18	38,70	40,46	16,32	62,93	61,39
Hornschicht	60,36	36,41	27,27	49,45	58,53	68,52	36,78	32,62
Epidermis	0,07	0,55	0,03	0,24	0,13	0,26	0,04	0,08
Cutis	0,09	0,31	0,03	0,33	0,19	0,43	0,00	0,00
Penetrationskammerwasser	1,45	11,65	0,47	11,28	0,69	14,44	0,25	5,91
Rest	0,06	0,02	0,02	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00

Tabelle 17

Prozentwerte der aufgetragenen Menge, absolute und molare Konzentrationen in der Hornschicht von 4-Chlortestosteron-acetat, Fluorofomylon und ihrer Substanzgemische im Vehikel weiße Vaseline während der fünf verschiedenen Penetrationszeiten.

Penetration zeit in min	H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 % mit Fluorofomylon 0,1 %			H^3 -Fluorofomylon 0,1 % mit 4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H^3 -Fluorofomylon 0,1 %		
	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol
10	18,17	233,69	641,17	13,65	224,40	615,67	11,50	164,28	314,73	6,11	91,66	175,59
30	20,74	311,14	853,66	14,91	255,72	701,61	19,62	252,31	483,31	5,46	97,62	187,02
100	12,58	206,82	567,44	16,12	264,84	726,62	34,17	512,57	981,93	7,33	151,87	296,95
300	14,71	241,67	663,06	21,37	305,41	837,95	26,37	452,19	866,26	5,67	89,21	170,90
1000	25,36	362,38	994,25	50,50	721,44	1979,36	25,19	413,91	792,93	8,44	120,66	231,16

Tabelle 18

Prozentwerte der aufgetragenen Menge, absolute und molare Konzentrationen in der Hormschicht von 4-Chlortestosteronacetat, Fluorformylon und ihrer Substanzgemische im Vehikel wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe während der fünf Penetrationszeiten

Penetra- tionszeit in min	H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 % mit Fluorformylon 0,1 %			H^3 -Fluorformylon 0,1 % mit 4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H^3 -Fluorformylon 0,1 %		
	%	$\mu\text{g/ml}$	μmol	%	$\mu\text{g/ml}$	μmol	%	$\mu\text{g/ml}$	μmol	%	$\mu\text{g/ml}$	μmol
10	16,08	252,66	693,22	51,76	628,60	1724,66	14,24	244,24	467,29	9,79	132,90	254,61
30	75,04	1071,96	2941,00	26,92	480,75	1319,00	24,33	397,63	665,96	19,71	295,70	566,47
100	6,89	103,42	283,77	39,79	540,12	1481,89	62,99	719,90	1379,12	19,65	280,81	537,96
300	22,78	325,49	893,04	62,37	935,62	2567,01	29,88	469,63	899,67	18,48	277,31	531,25
1000	30,28	432,56	1186,80	38,34	520,45	1427,94	40,00	514,33	985,32	50,82	580,80	1112,64

Tabelle 19

Prozentwerte der aufgetragenen Menge, absolute und molare Konzentrationen in der Hornschicht von 4-Chlortestosteron, Fluorofomylon und ihrer Substanzgemische im Vehikel wasserhaltige hydrophile Salbe während der fünf verschiedenen Penetrationszeiten

Penetra- tionszeit in min	H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 % mit Fluorofomylon 0,1 %			H^3 -Fluorofomylon 0,1 % mit 4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H^3 -Fluorofomylon 0,1 %		
	%	$\mu\text{g/ml}$	μmol	%	$\mu\text{g/ml}$	μmol	%	$\mu\text{g/ml}$	μmol	%	$\mu\text{g/ml}$	μmol
10	87,88	1067,15	2927,88	33,37	500,67	1373,66	36,81	447,05	856,42	22,39	303,90	582,19
30	28,61	408,76	1121,50	41,97	689,62	1892,62	68,21	779,58	1493,46	61,03	871,99	1670,48
100	17,48	212,37	582,67	51,03	692,64	1900,37	61,60	660,00	1264,38	54,35	737,61	1413,05
300	39,04	446,18	1224,16	44,05	692,34	1899,55	70,59	808,81	1545,62	48,09	858,78	1645,17
1000	27,91	398,85	1094,31	68,65	833,60	2287,11	64,17	962,59	1844,05	81,66	933,27	1707,88

Tabelle 20

Prozentwerte der aufgetragenen Menge, absolute und molare Konzentrationen in der Hornschicht von 4-Chlortestosteronacetat, Fluorofornylon und ihrer Substanzgemische im Vehtikel Polyaethylenglykolsalbe während der fünf verschiedenen Penetrationszeiten

Penetrationszeit in min	H^3 -4Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 % mit Fluorofornylon 0,1 %			H^3 -Fluorofornylon 0,1 % mit 4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H^3 -Fluorofornylon 0,1 %		
	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol
10	23,45	368,63	1011,39	38,76	636,87	1747,35	21,76	336,13	643,93	42,46	637,04	1220,39
30	31,78	476,75	1308,03	28,97	517,33	1419,36	33,54	455,18	872,00	24,44	349,24	669,05
100	21,26	364,49	1000,00	32,97	541,73	1486,31	37,18	504,59	966,66	19,69	267,28	512,03
300	44,22	631,76	1733,33	41,11	557,96	1530,84	20,69	384,37	736,83	18,08	361,64	692,81
1000	35,56	634,99	1742,19	60,06	857,96	2353,93	18,28	248,11	475,32	24,52	350,40	671,26

Tabelle 21

Prozentwerte der aufgetragenen Menge, absolute und molare Konzentrationen in der Epidermis von 4-Chlortestosteronacetat, Fluorofomylon und ihrer Substanzgemische im Vehikel weiße Vaseline während der fünf verschiedenen Penetrationszeiten

Penetrationszeit in min	H ³ -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H ³ -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 % mit Fluorofomylon 0,1 %			H ³ -Fluorofomylon 0,1 % mit 4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H ³ -Fluorofomylon 0,1 %		
	%	µg/ml	µmol	%	µg/ml	µmol	%	µg/ml	µmol	%	µg/ml	µmol
10	0,057	0,092	0,254	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,009	0,018
30	0,087	0,164	0,450	0,449	0,962	2,641	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
100	0,158	0,325	0,894	0,109	0,225	0,619	0,047	0,089	0,172	0,008	0,021	0,041
300	1,198	2,461	6,752	0,491	0,878	2,409	0,925	1,982	3,798	0,000	0,000	0,000
1000	4,177	7,459	20,466	0,439	0,789	2,153	0,417	0,856	1,642	0,127	0,228	0,497

Tabelle 22

Prozentwerte der aufgetragenen Menge, absolute und molare Konzentrationen in der Epidermis von 4-Chlortestosteronacetat, Fluorofomylon und ihrer Substanzgemische im Vehikel wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe während der fünf verschiedenen Penetrationszeiten

Penetra- tionszeit in min	H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 % mit Fluorofomylon 0,1 %			H^3 -Fluorofomylon 0,1 % mit 4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H^3 -Fluorofomylon 0,1 %		
	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol
10	0,330	0,649	1,78	0,031	0,047	0,131	0,027	0,059	0,114	0,000	0,000	0,000
30	0,001	0,001	0,005	0,000	0,000	0,000	0,109	0,194	0,375	0,025	0,048	0,092
100	0,085	0,159	0,438	0,012	0,021	0,059	0,058	0,083	0,160	0,017	0,030	0,058
300	0,737	1,316	3,612	1,882	3,529	9,684	0,503	0,989	1,895	0,000	0,000	0,000
1000	2,817	5,032	13,806	0,321	0,546	1,499	0,523	0,840	1,611	0,238	0,340	0,653

Tabelle 23

Prozentwerte der aufgetragenen Menge, absolute und molare Konzentrationen in der Epidermis von 4-Chlortestosteronacetat, Fluorofomylon und ihrer Substanzgemische im Veihikel wasser haltige hydrophile Salbe während der fünf verschiedenen Penetrationszeiten

Penetra- tionszeit in min	H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 % mit Fluorofomylon 0,1 %			H^3 -Fluorofomylon 0,1 % mit 4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H^3 -Fluorofomylon 0,1 %		
	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol
10	0,069	0,105	0,290	0,000	0,000	0,000	0,021	0,032	0,063	0,138	0,234	0,450
30	0,020	0,036	0,101	0,000	0,000	0,000	0,010	0,014	0,028	0,048	0,086	0,166
100	0,274	0,416	1,143	0,128	0,217	0,596	0,054	0,073	0,140	0,117	0,198	0,380
300	2,239	3,199	8,778	0,030	0,059	0,162	0,986	1,409	2,700	0,020	0,046	0,089
1000	7,361	13,146	36,068	0,321	0,487	1,338	0,247	0,464	0,890	0,304	0,435	0,835

Tabelle 24

Prozentwerte der aufgetragenen Menge, absolute und molare Konzentrationen in der Epidermis von 4-Chlortestosteronacetat, Fluorofomylon und ihrer Substanzgemische im Vehikel Polyaethylenglykolsalbe während der fünf verschiedenen Penetrationszeiten

Penetrationszeit in min	H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 % mit Fluorofomylon 0,1 %			H^3 -Fluorofomylon 0,1 % mit 4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H^3 -Fluorofomylon 0,1 %		
	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol
10	0,256	0,503	1,383	0,123	0,254	0,967	0,021	0,036	0,070	0,005	0,009	0,019
30	0,390	0,733	2,011	3,905	8,718	23,920	0,058	0,098	0,190	0,748	1,337	2,562
100	0,000	0,000	0,000	0,049	0,101	0,277	0,007	0,012	0,024	0,025	0,042	0,082
300	0,806	1,441	3,954	0,074	0,125	0,345	0,096	0,223	0,429	0,006	0,015	0,030
1000	5,006	11,176	30,664	0,628	1,122	3,081	0,109	0,125	0,355	0,064	0,114	0,220

Tabelle 25

Prozentwerte der aufgetragenen Menge, absolute und molare Konzentrationen in der Cutis von 4-Chlortestosteronacetat, Fluoromylon und ihrer Substanzgemische im Vehikel weiße Vaseline während der fünf verschiedenen Penetrationszeiten

Penetra- tionszeit in min	H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 % %	$\mu g/ml$	μmol	H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 % mit Fluoromylon 0,1 % %	$\mu g/ml$	μmol	H^3 -Fluoromylon 0,1 % mit 4-Chlortestosteron- acetat 0,1 % %	$\mu g/ml$	μmol	H^3 -Fluoromylon 0,1 % %	$\mu g/ml$	μmol
10	0,039	0,009	0,026	0,000	0,000	0,000	0,027	0,007	0,014	0,000	0,000	0,000
30	0,036	0,010	0,027	0,054	0,017	0,048	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
100	0,055	0,016	0,046	0,020	0,006	0,017	0,250	0,069	0,133	0,010	0,004	0,008
300	1,607	0,489	1,342	0,590	0,156	0,428	0,515	0,163	0,314	0,022	0,007	0,013
1000	7,245	1,916	5,259	0,847	0,224	0,615	0,387	0,117	0,226	0,069	0,018	0,035

Tabelle 26

Prozentwerte der ausgetragenen Menge, absolute und molare Konzentrationen in der Cutis von 4-Chlortestosteronacetat, Fluorofomylon und ihrer Substratgemische im Vehikel wasserhaltige Wollwachsalcoholsalbe während der fünf verschiedenen Penetrationszeiten

Penetra- tionszeit in min	H ³ -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H ³ -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 % mit Fluorofomylon 0,1 %			H ³ -Fluorofomylon 0,1 % mit 4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H ³ -Fluorofomylon 0,1 %		
	%	µg/ml	µmol	%	µg/ml	µmol	%	µg/ml	µmol	%	µg/ml	µmol
10	0,185	0,053	0,148	0,000	0,000	0,000	0,004	0,001	0,002	0,000	0,000	0,000
30	0,000	0,000	0,000	0,060	0,020	0,055	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
100	0,174	0,048	0,133	0,002	0,000	0,001	0,026	0,005	0,011	0,025	0,006	0,013
300	1,149	0,304	0,835	1,523	0,423	1,161	0,469	0,136	0,262	0,024	0,006	0,013
1000	3,931	1,040	2,854	1,206	0,303	0,832	0,222	0,053	0,102	0,332	0,070	0,135

Tabelle 27

Prozentwerte der aufgetragenen Menge, absolute und molare Konzentrationen in der Cutis von 4-Chlortestosteronacetat, Fluorofomylon und ihrer Substanzgemische im Vehikel wasserhaltige hydrophile Salbe während der fünf verschiedenen Penetrationszeiten

	H^3 -4-Chlortestosteron- Penetra- tionszeit in min			H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H^3 -Fluorofomylon 0,1 % mit 4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H^3 -Fluorofomylon 0,1 %		
	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol
10	0,482	0,108	0,298	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,028	0,008	0,015
100	0,505	0,113	0,312	0,018	0,005	0,013	0,229	0,045	0,084	0,170	0,042	0,082
300	4,328	0,916	2,514	0,003	0,001	0,003	0,898	0,190	0,364	0,156	0,051	0,099
1000	4,780	1,264	3,470	0,909	0,204	0,561	0,355	0,098	0,189	0,502	0,106	0,204

Tabelle 28

Prozentwerte der aufgetragenen Menge, absolute und molare Konzentrationen in der Cutis von 4-Chlortestosteronacetat, Fluorofomylon und ihrer Substanzgemische im Vehikel Polyaethylenglykolsalbe während der fünf verschiedenen Penetrationszeiten

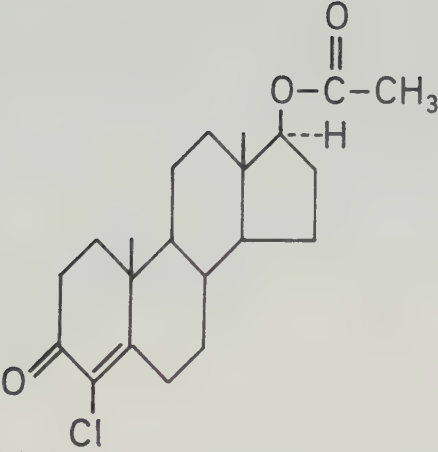
Penetra- tionszeit in min	H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H^3 -4-Chlortestosteron- acetat 0,1 % mit Fluorofomylon 0,1 %			H^3 -Fluorofomylon 0,1 % mit 4-Chlortestosteron- acetat 0,1 %			H^3 -Fluorofomylon 0,1 %		
	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol	%	$\mu g/ml$	μmol
10	0,251	0,073	0,201	0,001	0,000	0,001	0,004	0,001	0,002	0,003	0,001	0,002
30	0,067	0,018	0,051	1,331	0,440	1,208	0,052	0,013	0,025	0,020	0,005	0,010
100	0,002	0,000	0,002	0,009	0,003	0,008	0,094	0,023	0,096	0,003	0,000	0,002
300	0,141	0,037	0,103	0,016	0,004	0,011	0,098	0,033	0,065	0,009	0,003	0,007
1000	2,442	0,807	2,216	1,579	0,417	1,147	0,020	0,005	0,020	0,005	0,002	0,003

Tabelle 29

Verhältnismwerte in Prozent der Penetrationsraten der beiden Steroide und ihrer Substanzgemische in die Epidermis
(Penetrationszeit: 1000 min)

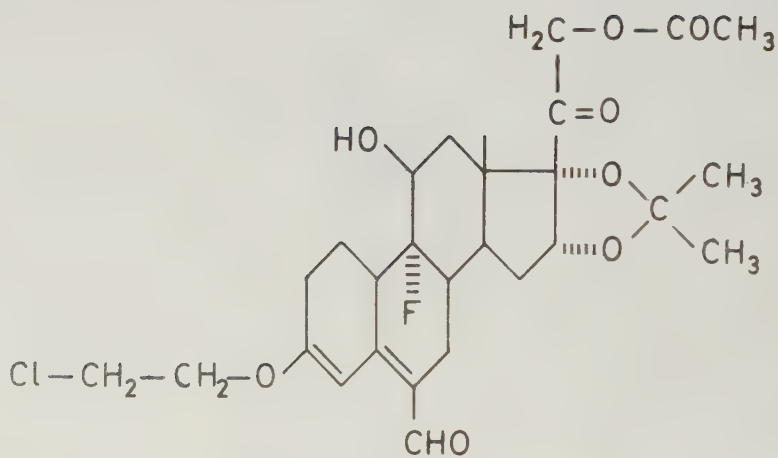
	Fluorofomylon zu 4-Chlortestosteronacetat (100 %)	H ³ Fluorofomylon mit 4-Chlortestosteronacetat- zusatz zu H ³ -4-Chlortestosteron- acetat mit Fluorofomylon- lonzusatz (100 %)	Fluorofomylon zu H ³ -Fluorofomylon mit 4-Chlortestosteron- acetatzusatz (100 %)	H ³ -4-Chlortestosteron- acetat mit Fluorofomylon- zusatz zu 4-Chlortestosteronacetat (100 %)
weiße Vaseline	2,1	76,3	26,6	10,5
wasserhaltige Woll- wachsalcoholsalbe	4,7	107,5	40,5	10,9
wasserhaltige hydro- phille Salbe	2,3	66,5	93,82	3,7
Polyaethylenglykol- salbe	0,7	11,5	61,9	10,0

Abbildung 1



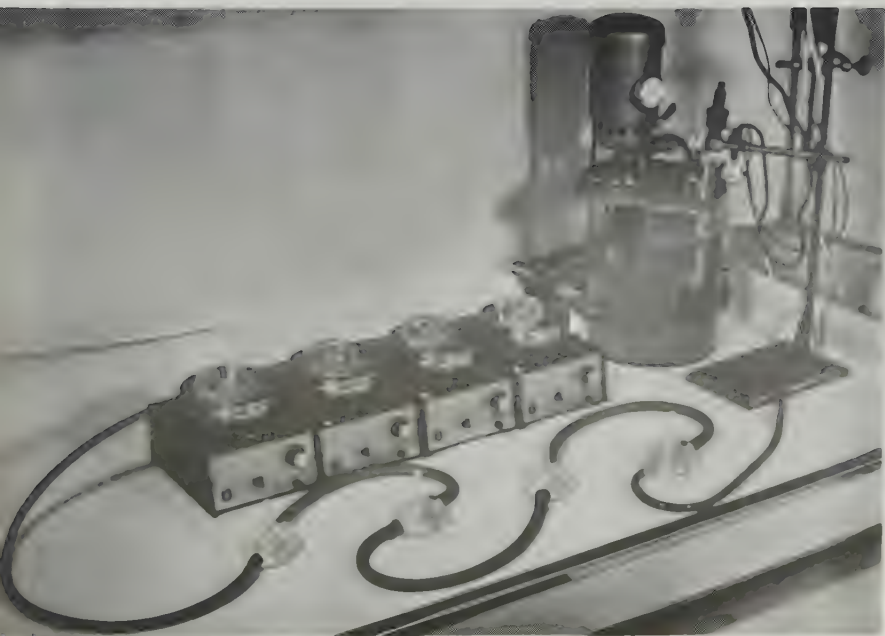
4-Chlortestosteronacetat, Molekulargewicht 364,48

Abbildung 11



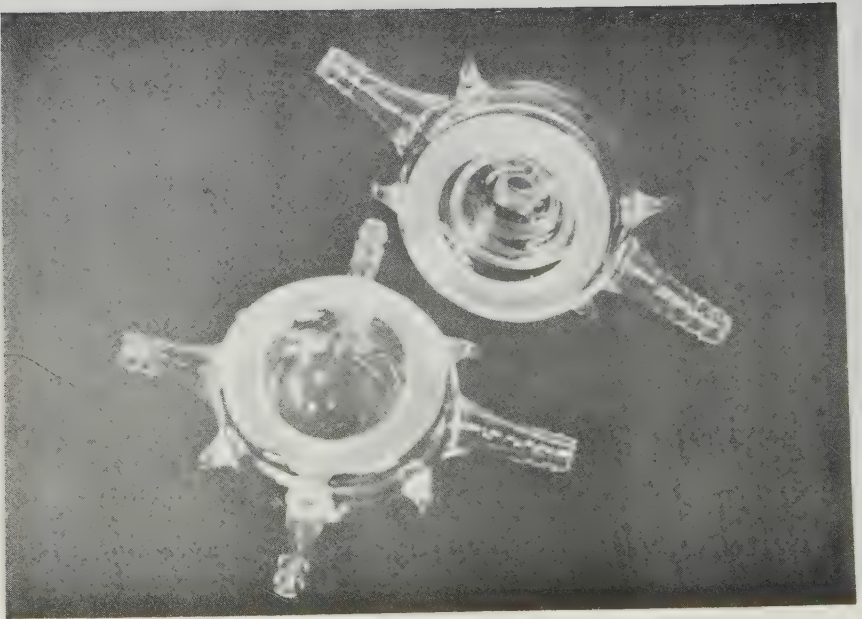
Fluorofornylon, Molekulargewicht 522,00

Abbildung III



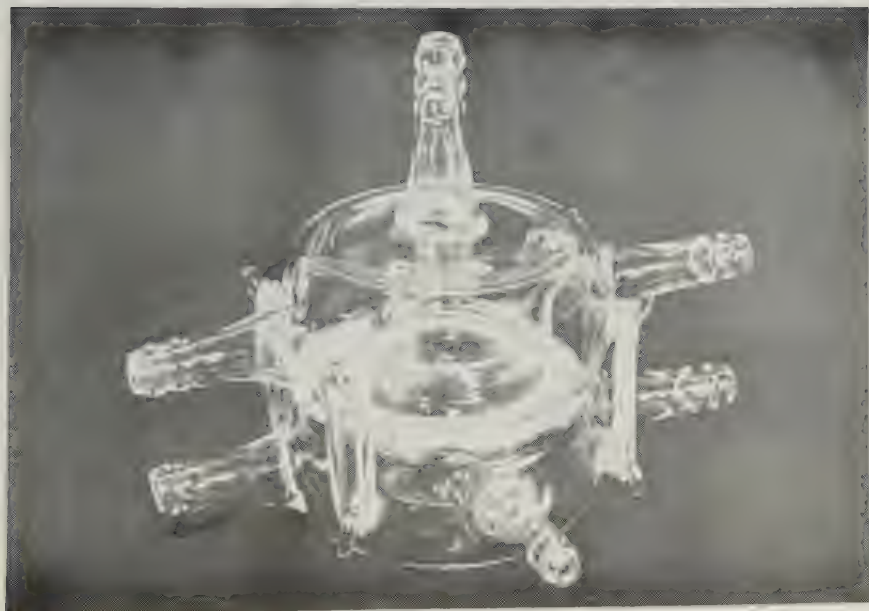
Gesamter Versuchsaufbau der vier in Reihe geschalteten Penetrationskammern

Abbildung IV



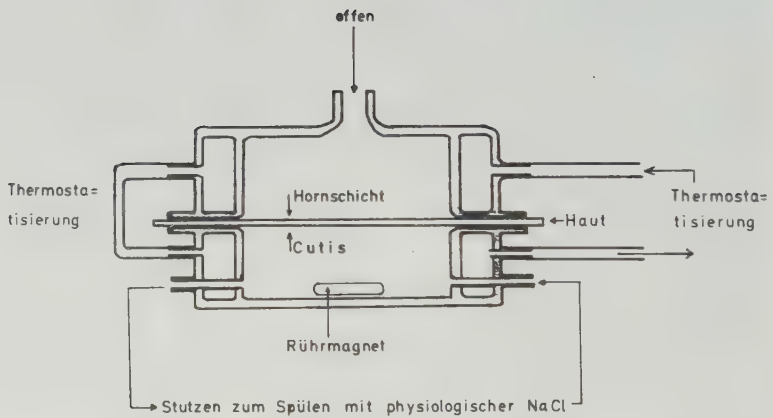
Beide Hälften einer Penetrationskammer

Abbildung V



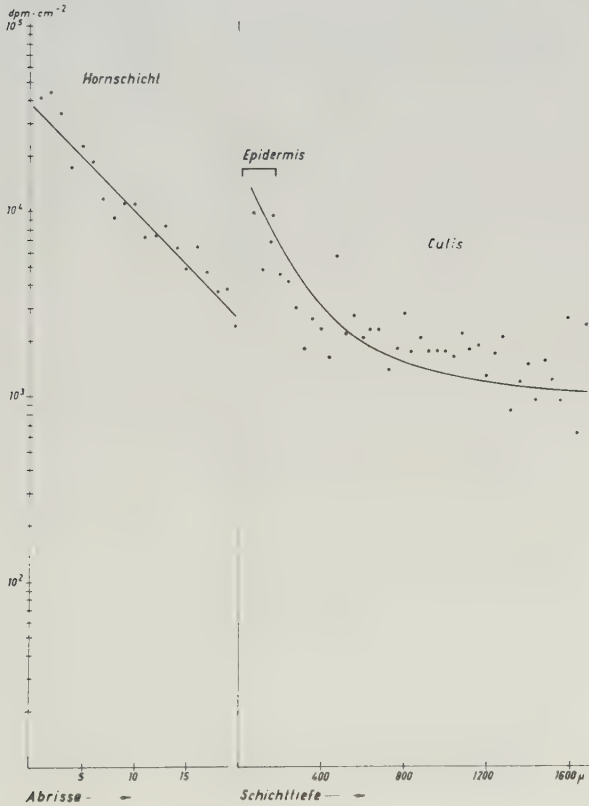
Eine Penetrationskammer

Abbildung VI



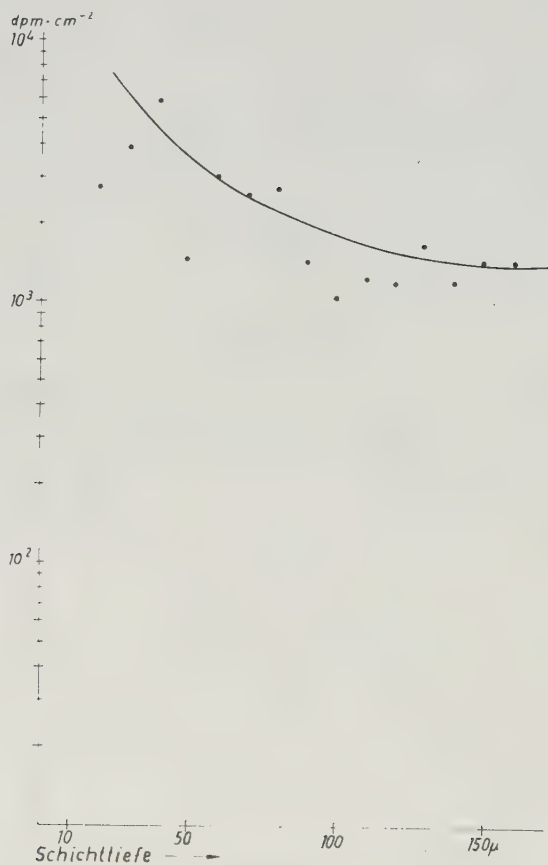
Systemzeichnung einer Penetrationskammer

Abbildung 1



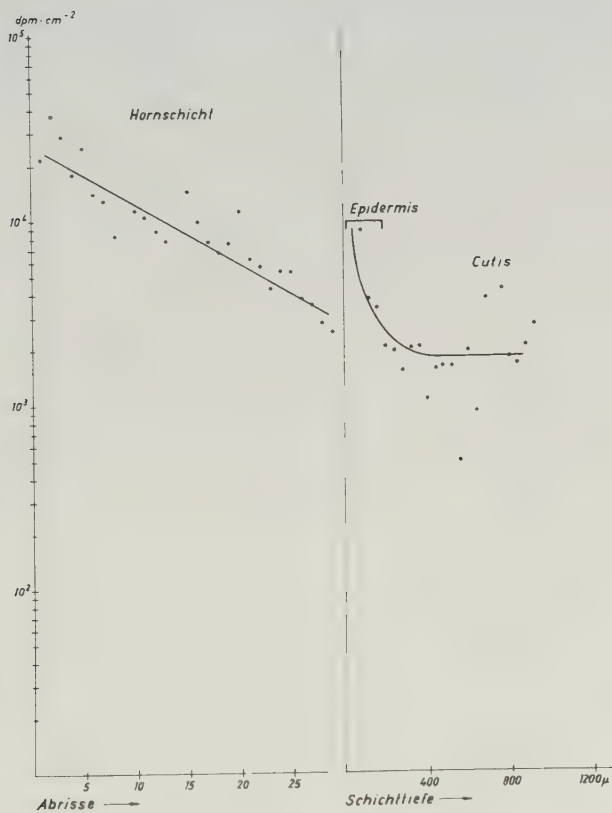
Verteilung des radiomarkierten 4-Chlortestosteronacetats (ausgedrückt als Aktivität in dpm) als Funktion der Anzahl der Hornschichtabrisse und der Schichttiefe (40μ Horizontalschnitte) aus dem Vehikel weiße Vaseline nach 1000 min Penetrationszeit.

Abbildung 2



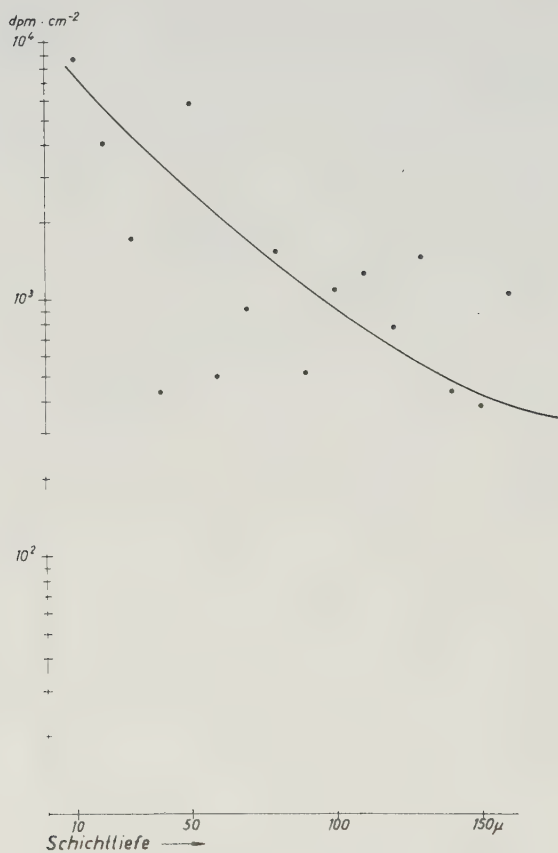
Verteilung des 4-Chlortestosteronacetats bzw. der Aktivität aus dem Vehi-
kel weiße Vaseline in der Epidermis in Abhängigkeit von der Schichttiefe
(10 μ Horizontalschnitte) nach 1000 min Einwirkungszeit.

Abbildung 3



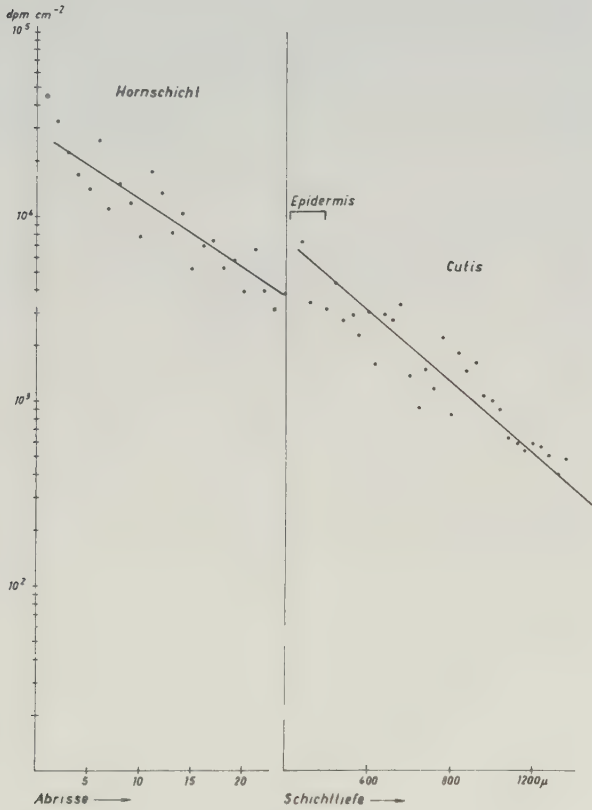
Verteilung des radiomarkierten 4-Cholestosteronacetats (ausgedrückt als Aktivität in dpm) als Funktion der Anzahl der Hornschichtabrisse und der Schichttiefe (40 μ Horizontalschnitte) aus dem Vehikel wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe nach 1000 min Einwirkungszeit.

Abbildung 4



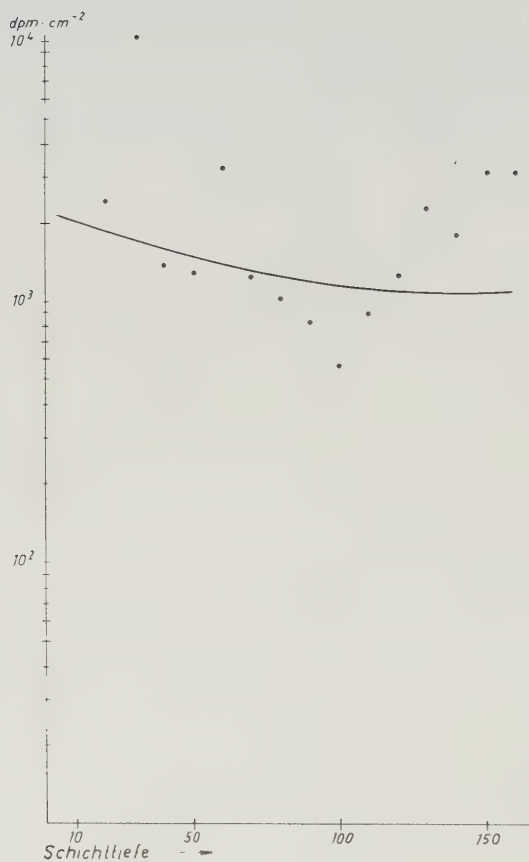
Verteilung des 4-Chlortestosteronacetats bzw. der Aktivität aus dem Vehikel wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe in der Epidermis in Abhängigkeit von der Schichttiefe (10μ Horizontalschnitte) nach 1000 min Einwirkungszeit.

Abbildung 5



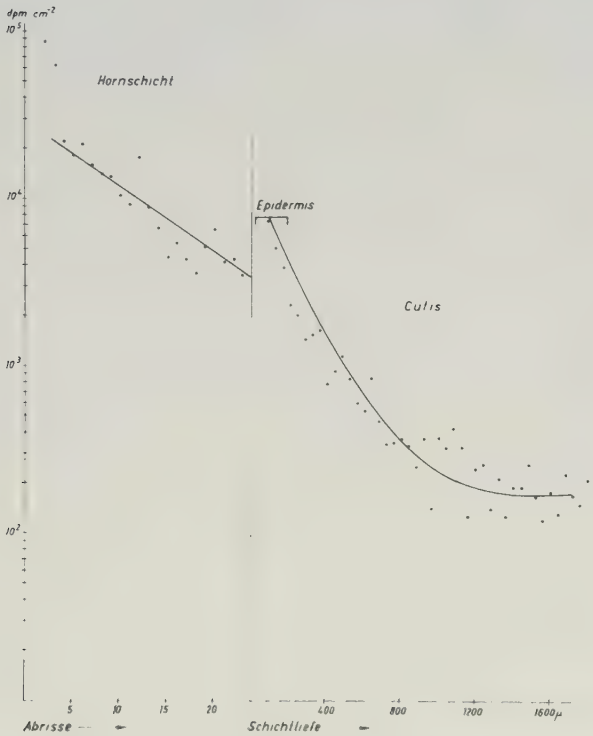
Verteilung des radiomarkierten 4-Chlortestosteronacetats (ausgedrückt als Aktivität in dpm) als Funktion der Anzahl der Hornschichtabrisse und der Schichttiefe (40 μ Horizontalschnitte) aus dem Vehikel wasserhaltige hydrophile Salbe nach 1000 min Einwirkungszeit.

Abbildung 6



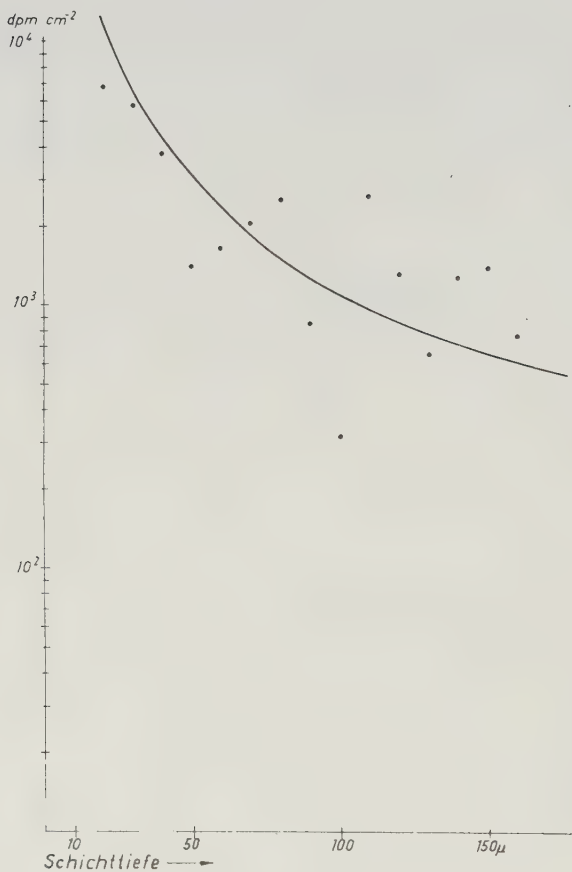
Verteilung des 4-Chlortestosteronacetats bzw. der Aktivität aus dem Vehi-
kel wasserhaltige hydrophile Salbe in der Epidermis in Abhängigkeit von der
Schichttiefe (10μ Horizontalschnitte) nach 1000 min Einwirkungszeit.

Abbildung 7



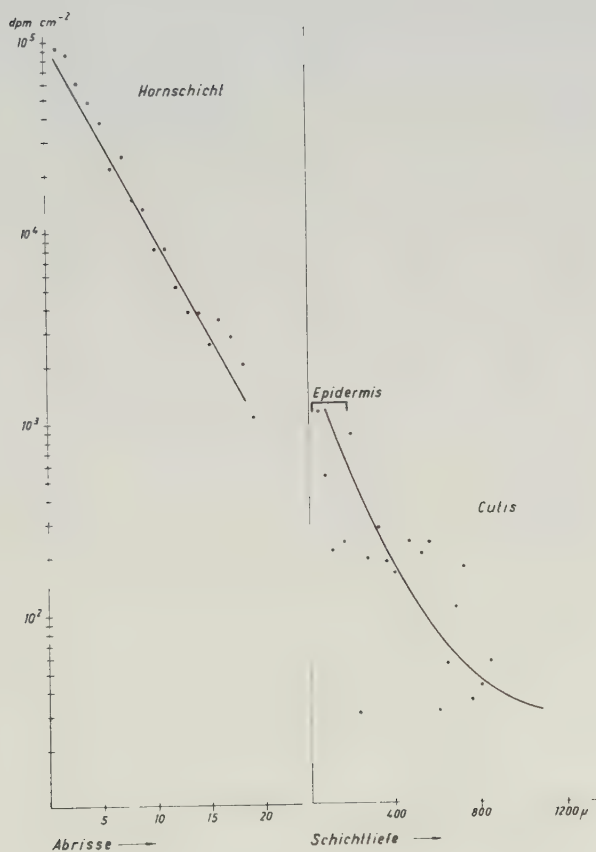
Verteilung des radiomarkierten 4-Chlortestosteronacetats (ausgedrückt als Aktivität in dpm) als Funktion der Anzahl der Hornschichtabrisse und der Schichttiefe (40μ Horizontalschnitte) aus dem Vehikel Polyäthylenglykol-salbe nach 1000 min Einwirkungszeit.

Abbildung 8



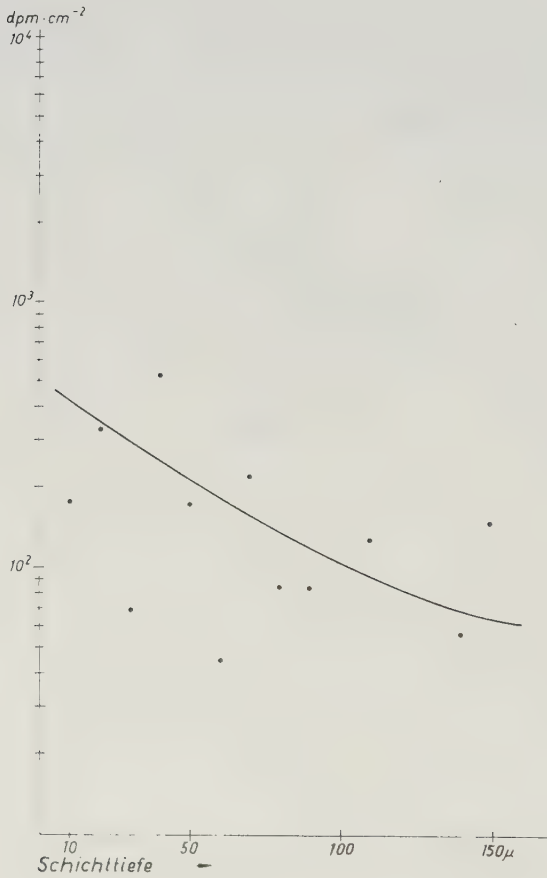
Verteilung des 4-Chlortestosteronacetats bzw. der Aktivität aus dem Vehikel Polyäthylenglykolsalbe in der Epidermis in Abhängigkeit von der Schichttiefe (10 μ Horizontalsschnitte) nach 1000 min Einwirkungszeit.

Abbildung 9



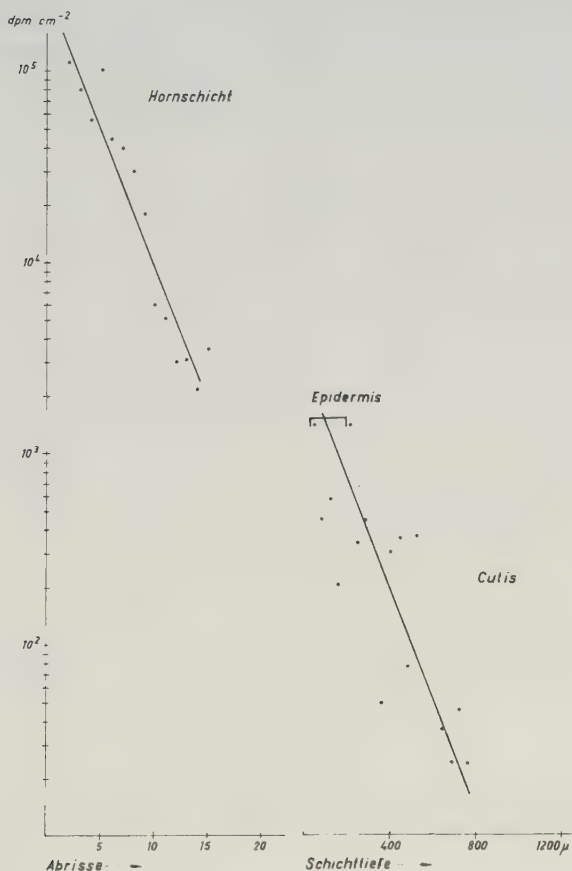
Verteilung des radiomarkierten Fluoroformylons (ausgedrückt als Aktivität in dpm) als Funktion der Anzahl der Hornschichtabrisse und der Schichttiefe ($40\ \mu$ Horizontalschnitte) aus dem Vehikel wasserhaltige Wollwachsalkohol-salbe nach 1000 min Einwirkungszeit.

Abbildung 10



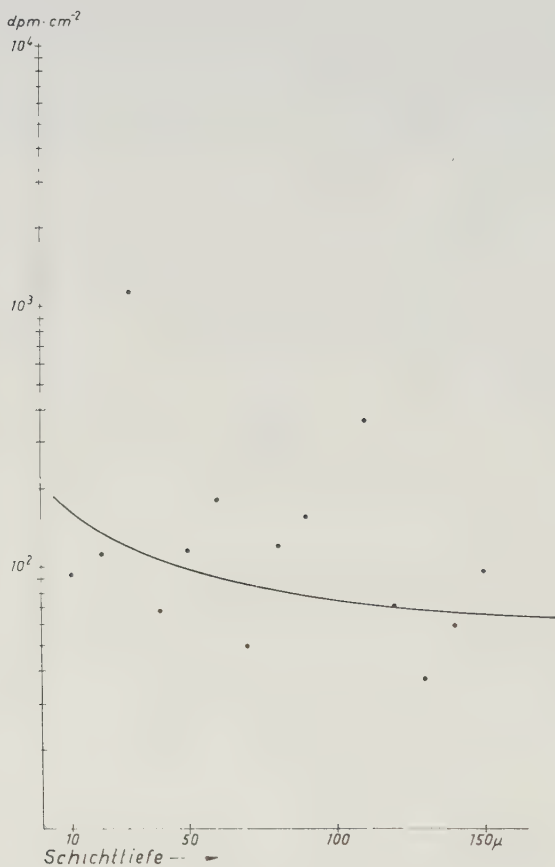
Verteilung des Fluoroformylons bzw. der Aktivität aus dem Vehikel wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe in der Epidermis in Abhängigkeit von der Schichttiefe (10μ Horizontalschnitte) nach 1000 min Einwirkungszeit.

Abbildung 11



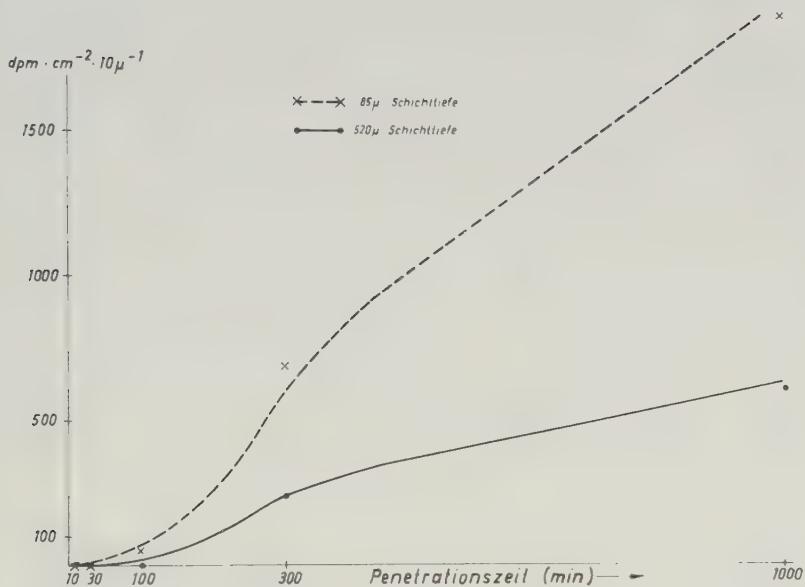
Verteilung des radiomarkierten Fluoroformylons (ausgedrückt als Aktivität in dpm) als Funktion der Anzahl der Hornschichtabrisse und der Schichttiefe ($40\ \mu$ Horizontalschnitte) aus dem Vehikel wasserhaltige hydrophile Salbe nach 1000 min Einwirkungszeit.

Abbildung 12



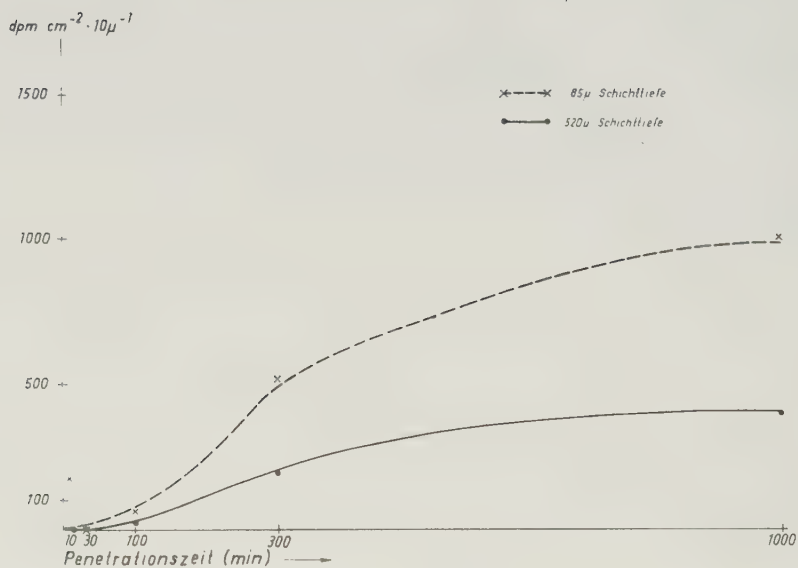
Verteilung des Fluoroformylons bzw. der Aktivität aus dem Vehikel wasserhaltige hydrophile Salbe in der Epidermis in Abhängigkeit von der Schichttiefe (10μ Horizontalschnitte) nach 1000 min Einwirkungszeit.

Abbildung 13



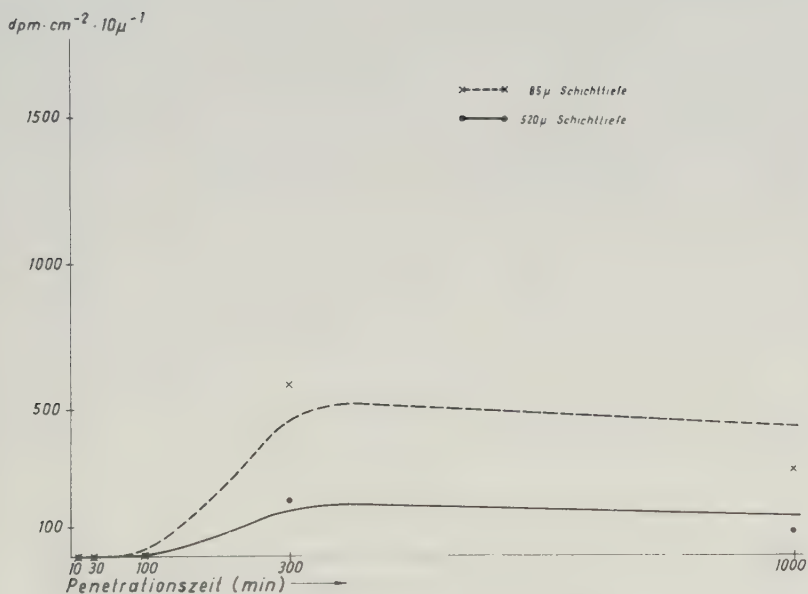
Penetrationskinetik (10 - 1000 min) des 4-Chlortestosteronacetats im Vehikel weiße Vaseline in einem Gewebestück von 10 µ Dicke in 85 bzw. 520 µ Schichttiefe.

Abbildung 14



Penetrationskinetik (10 - 1000 min) des 4-Chlortestosteronacetats im Vehi-
kel wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe in einem Gewebestück von 10 μ
Dicke in 85 bzw. 520 μ Schichttiefe.

Abbildung 15



Penetrationskinetik (10 - 1000 min) des 4-Chlortestosteronacetats mit Fluoroformylonzusatz im Vehikel wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe in einem Gewebestück von 10 μ Dicke in 85 - 520 μ Schichttiefe.

Abbildung 16

$\text{dpm cm}^{-2} \cdot 10 \mu^{-1}$

1500 -

--- 85 μ Schichttiefe

●---● 520 μ Schichttiefe

1000 -

500 -

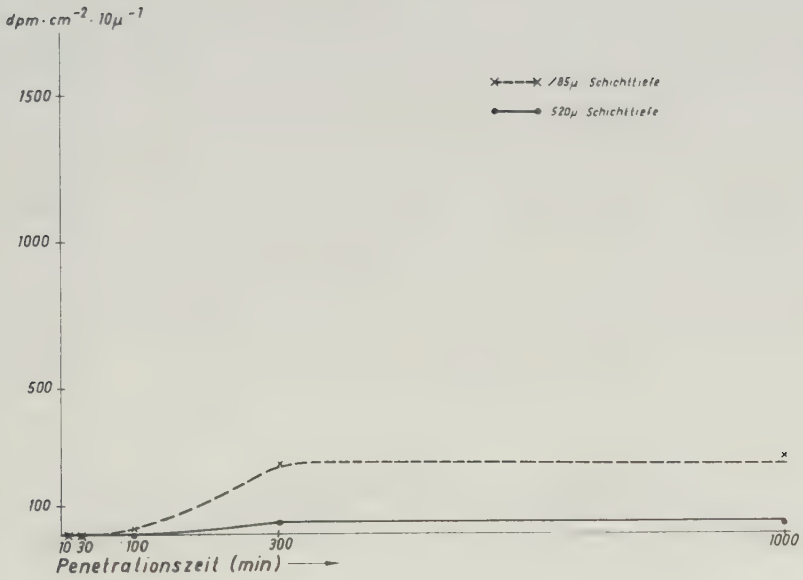
100 -

Penetrationszeit (min) - - -

1000

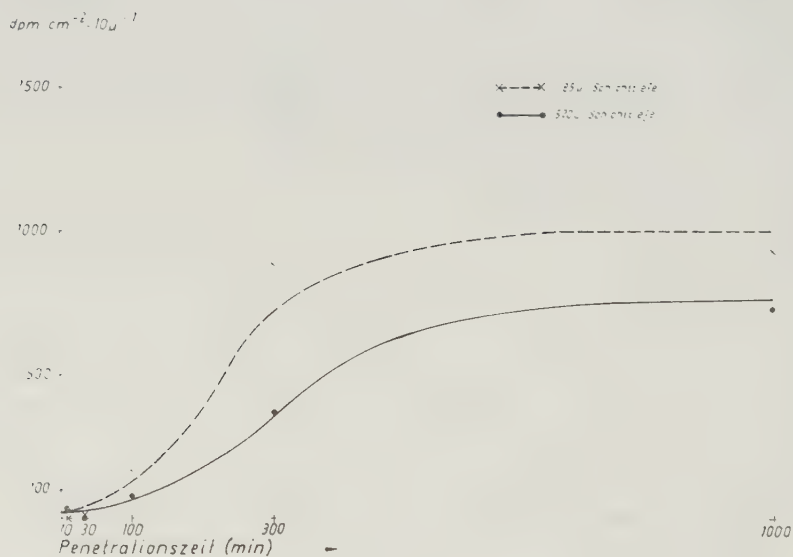
Penetrationskinetik (10 - 1000 min) des Fluoroformylons im Vehikel wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe in einem Gewebestück von 10 μ Dicke in 85 bzw. 520 μ Schichttiefe.

Abbildung 17



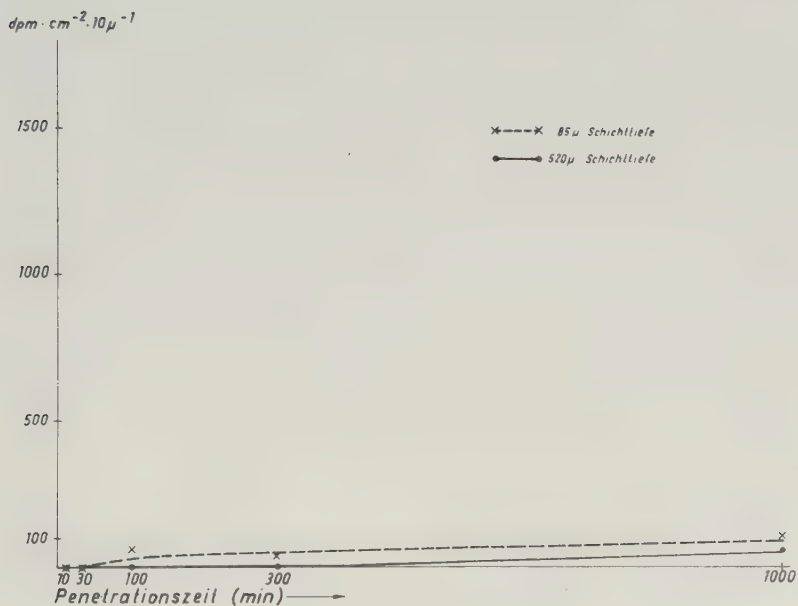
Penetrationskinetik (10 - 1000 min) des Fluoroformylons mit 4-Chlortestosteronacetatzusatz im Vehikel wasserhaltige hydrophile Salbe in einem Gewebestück von 10 μ Dicke in 85 bzw. 520 μ Schichttiefe.

Abbildung 18



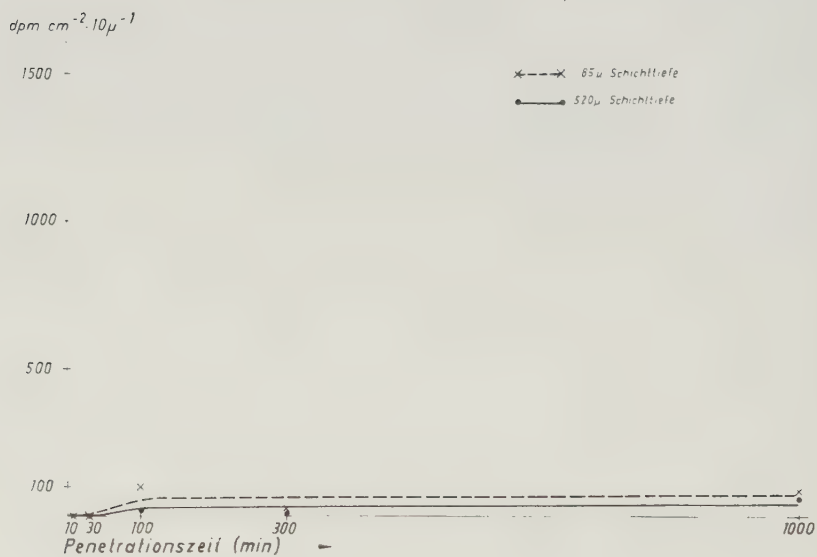
Penetrationskinetik (10 - 1000 min) des 4-Chlortestosteronacetats im Vehikel wasserhaltige hydrophile Salbe in einem Gewebestück von 10 μ Dicke in 85 bzw. 520 μ Schichttiefe.

Abbildung 19



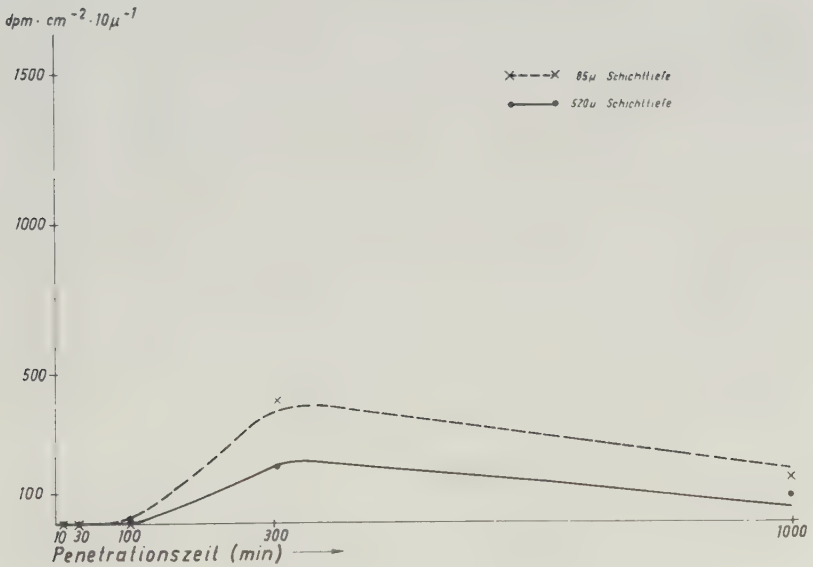
Penetrationskinetik (10 - 1000 min) des 4-Chlortestosteronacetats mit Fluoroformylonzusatz im Vehikel wasserhaltige hydrophile Salbe in einem Gewebestück von 10 μ Dicke in 85 bzw. 520 μ Schichttiefe.

Abbildung 20



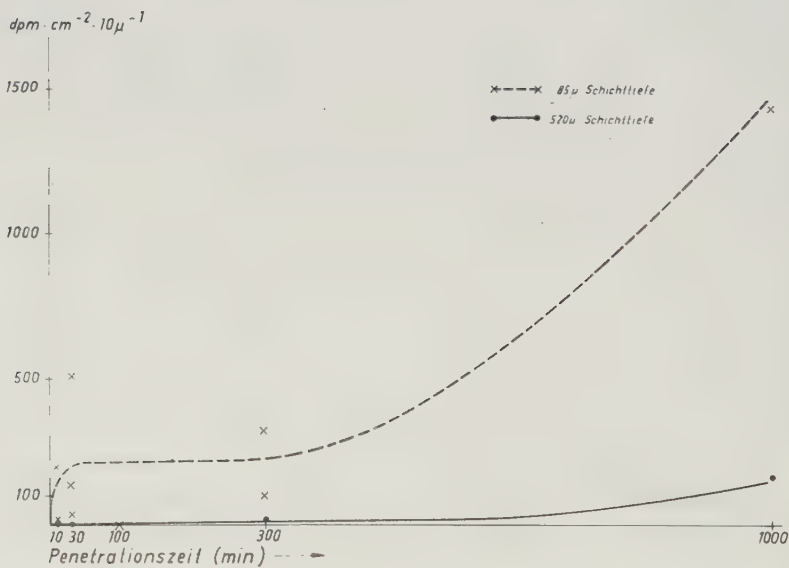
Penetrationskinetik (10 - 1000 min) des Fluoromylons im Vehikel wasserhaltige hydrophile Salbe in einem Gewebestück von 10 μ Dicke in 85 bzw. 520 μ Schichttiefe.

Abbildung 21



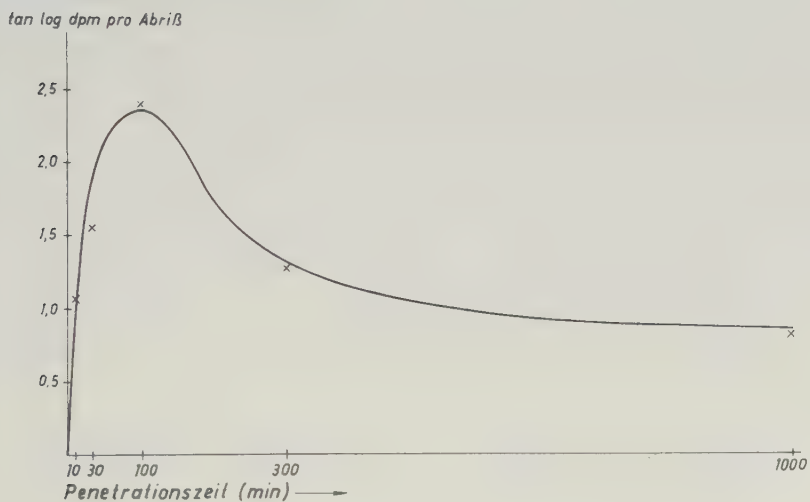
Penetrationskinetik (10 - 1000 min) des Fluoromethylolons mit 4-Chlortestosteronacetatzusatz im Vehikel wasserhaltige hydrophile Salbe in einem Gewebestück von 10 μ Dicke in 85 bzw. 520 μ Schichttiefe.

Abbildung 22



Penetrationskinetik (10 - 1000 min) des 4-Chlortestosteronacetats im Vehikel Polyäthylenglykosalbe in einem Gewebestück von 10 µ Dicke in 85 bzw. 520 µ Schichttiefe.

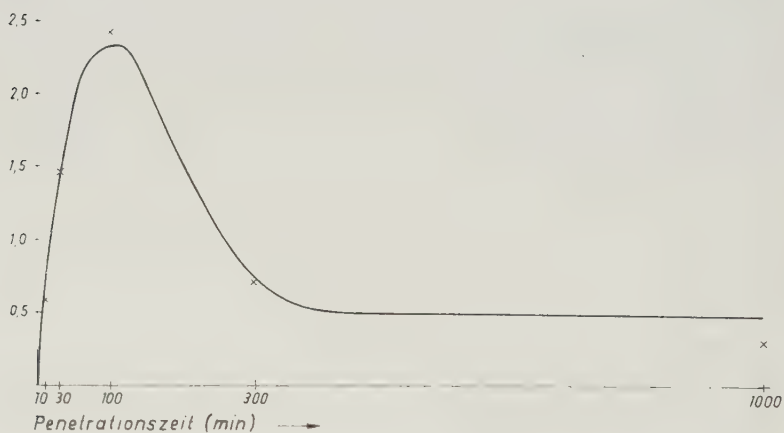
Abbildung 23



Die Tangen der Steigungswinkel der Hornschichtverteilungskurven von Fluo-
roformylon während der verschiedenen Penetrationszeiten im Vehikel weiße
Vaseline als Maß für die Anreicherung dieser Substanz in der Hornschicht.

Abbildung 24

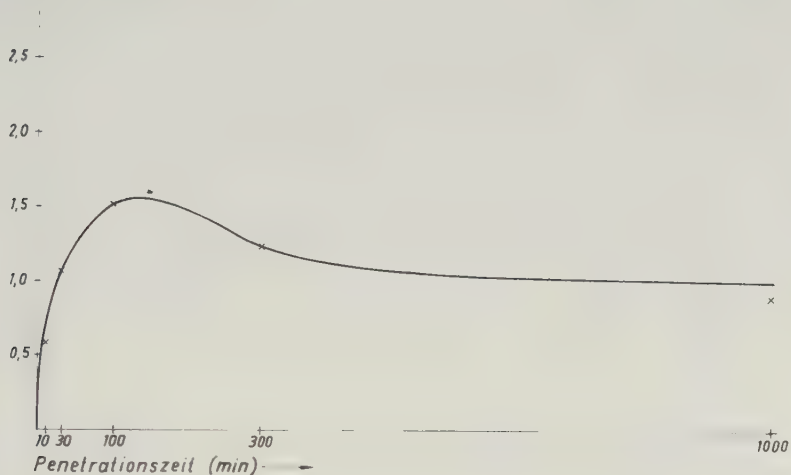
tan log dpm pro Abriß



Die Tangen der Steigungswinkel der Hornschichtverteilungskurven von 4-Chlor-testosteronacetat während der verschiedenen Penetrationszeiten im Vehikel wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe als Maß für die Anreicherung dieser Substanz in der Hornschicht.

Abbildung 25

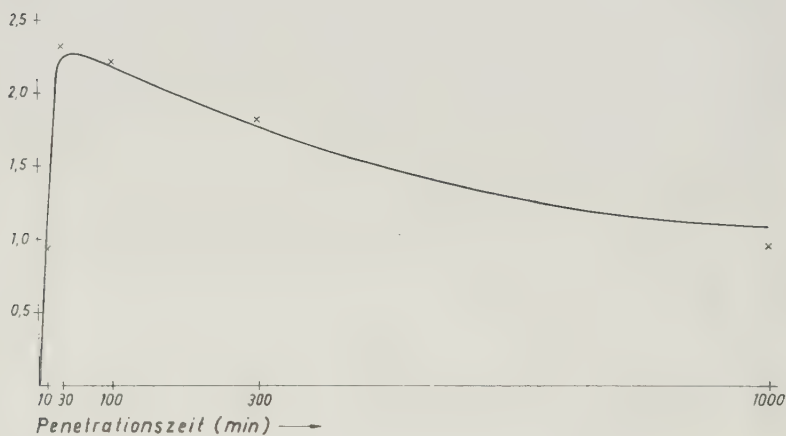
tan log dpm pro Abriß



Die Tangen der Steigungswinkel der Hornschichtverteilungskurven von 4-Chlor-testosteronacetat mit Fluoroformylonzusatz während der verschiedenen Penetrationszeiten im Vehikel wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe als Maß für die Anreicherung dieses Substanzgemisches in der Hornschicht.

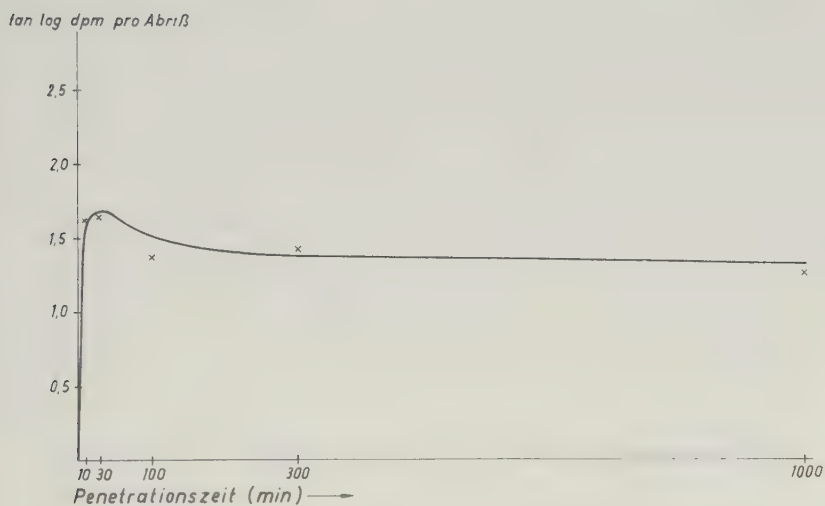
Abbildung 26

tan log dpm pro Abriß



Die Tangen der Steigungswinkel der Hornschichtverteilungskurven von Fluoroformylon während der verschiedenen Penetrationszeiten im Vehikel wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe als Maß für die Anreicherung dieser Substanz in der Hornschicht.

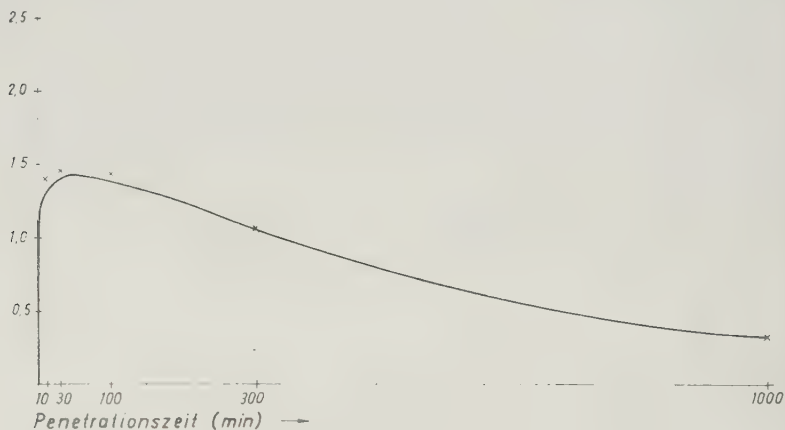
Abbildung 27



Die Tangen der Steigungswinkel der Hornschichtverteilungskurven von Fluoromylon mit 4-Chlortestosteronacetatzusatz während der verschiedenen Penetrationszeiten im Vehikel wasserhaltige Wollwachsalkholsalbe als Maß für die Anreicherung dieses Substanzgemisches in der Hornschicht.

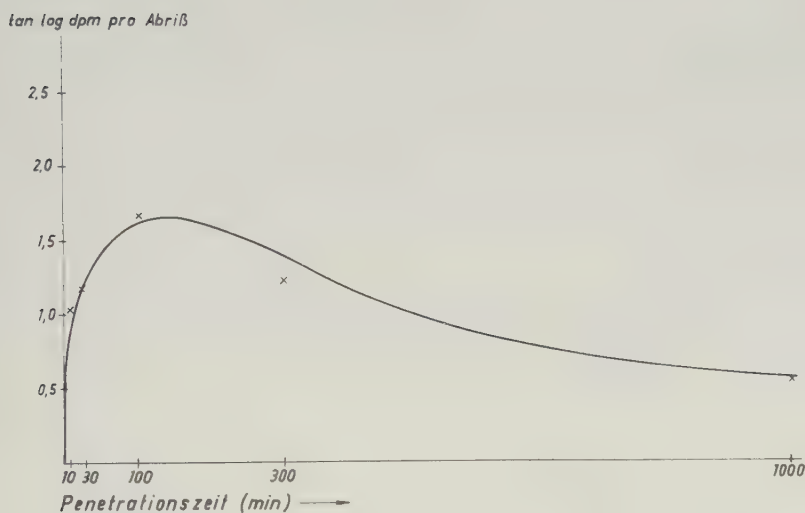
Abbildung 28

Ian log dpm pro Abriß



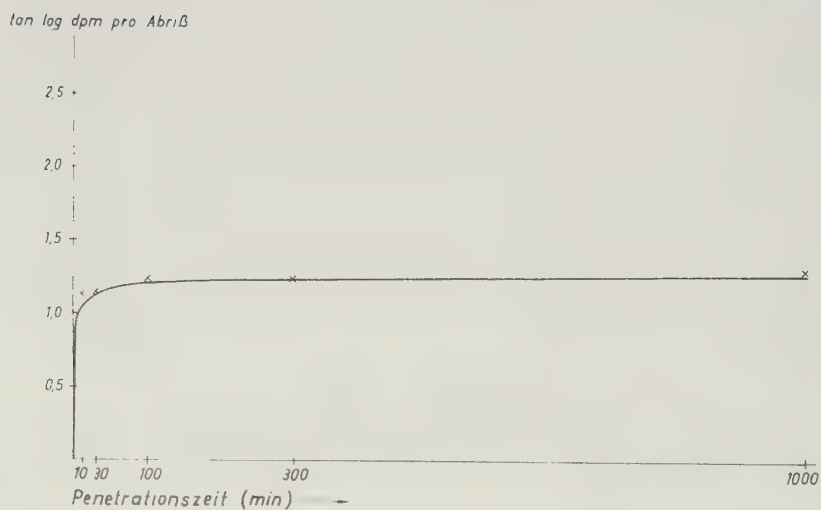
Die Tangen der Steigungswinkel der Hornschichtverteilungskurven von 4-Chlor-testosteronacetat während der verschiedenen Penetrationszeiten im Vehikel wasserhaltige hydrophile Salbe als Maß für die Anreicherung dieser Substanz in der Hornschicht.

Abbildung 29



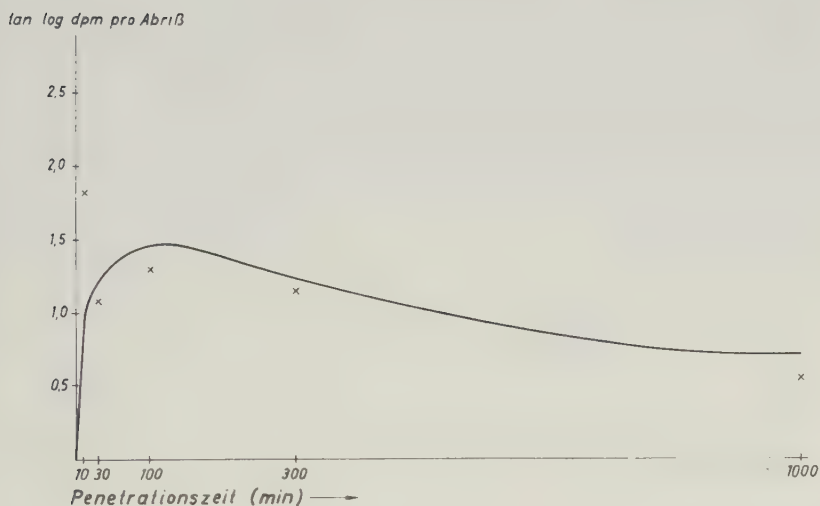
Die Tangen der Steigungswinkel der Hornschichtverteilungskurven von 4-Chlor-testosteronacetat mit Fluoroformylonzusatz während der verschiedenen Penetrationszeiten im Vehikel wasserhaltige hydrophile Salbe als Maß für die Anreicherung dieses Substanzgemisches in der Hornschicht.

Abbildung 30



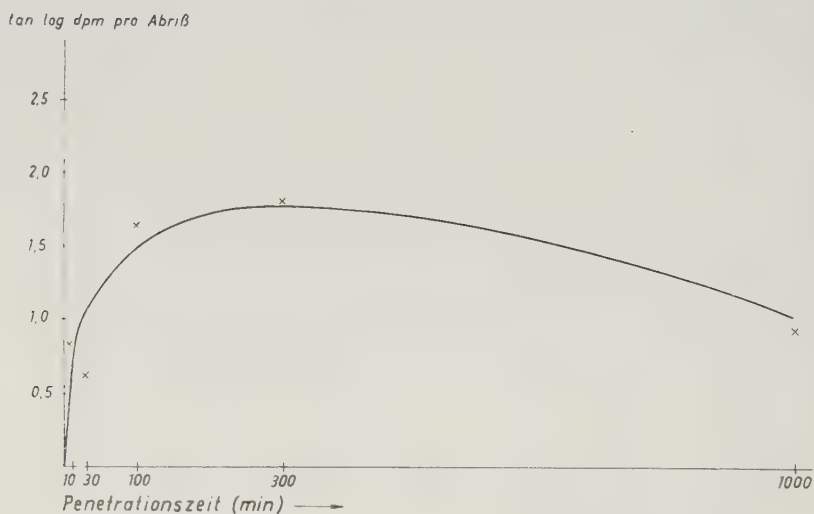
Die Tangen der Steigungswinkel der Hornschichtverteilungskurven von Fluoroformylon während der verschiedenen Penetrationszeiten im Vehikel wasserhaltige hydrophile Salbe als Maß für die Anreicherung dieser Substanz in der Hornschicht.

Abbildung 31



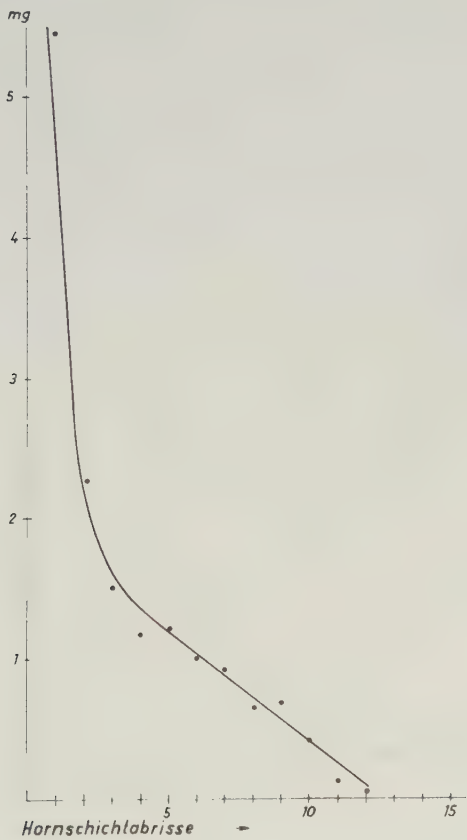
Die Tangen der Steigungswinkel der Hornschichtverteilungskurven von Fluorofornylon mit 4-Chlortestosteronacetatzusatz während der verschiedenen Penetrationszeiten im Vehikel wasserhaltige hydrophile Salbe als Maß für die Anreicherung dieses Substanzgemisches in der Hornschicht.

Abbildung 32



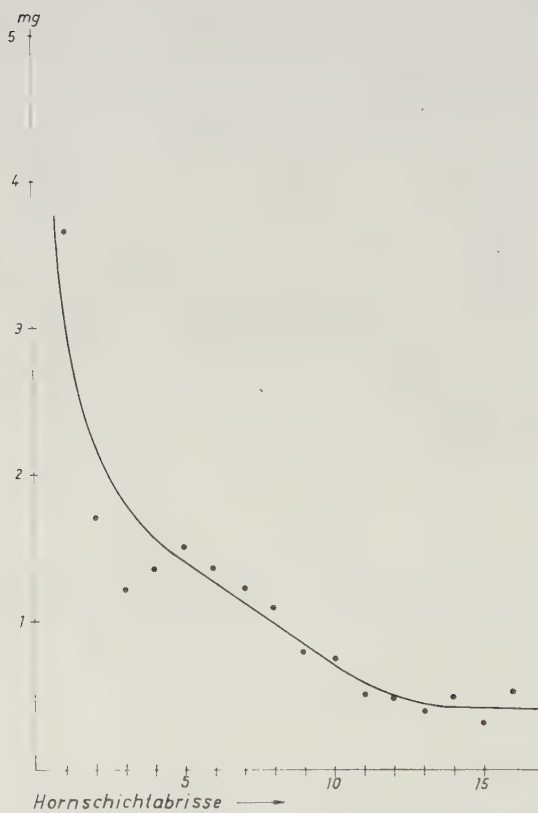
Die Tangen der Steigungswinkel der Hornschichtverteilungskurven von Fluorformylon während der verschiedenen Penetrationszeiten im Vehikel Polyäthylenglykosalbe als Maß für die Anreicherung dieser Substanz in der Hornschicht.

Abbildung 33



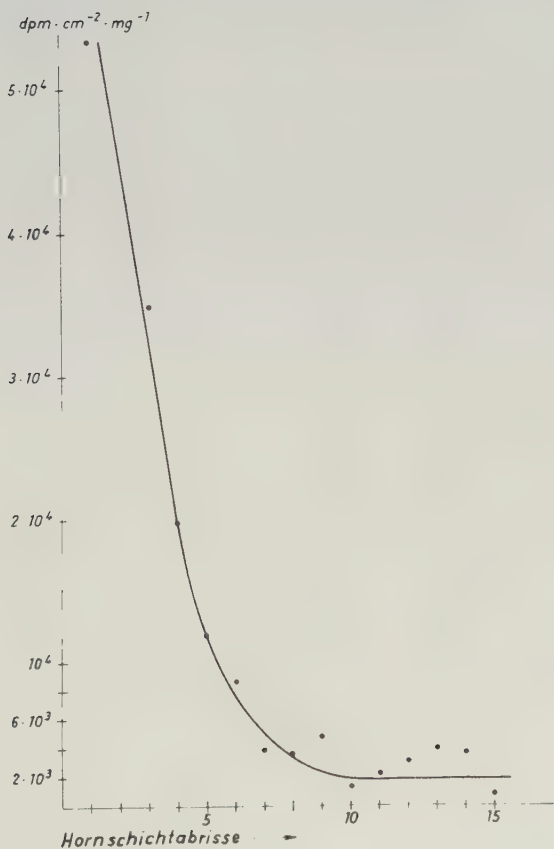
Das am Tesafilmabriß anhaftende Hornschichtgewebe (mg) nach lokaler Appli-
kation von Fluorofomylon im Vehikel weiße Vaseline (Penetrationszeit 100 min)

Abbildung 34



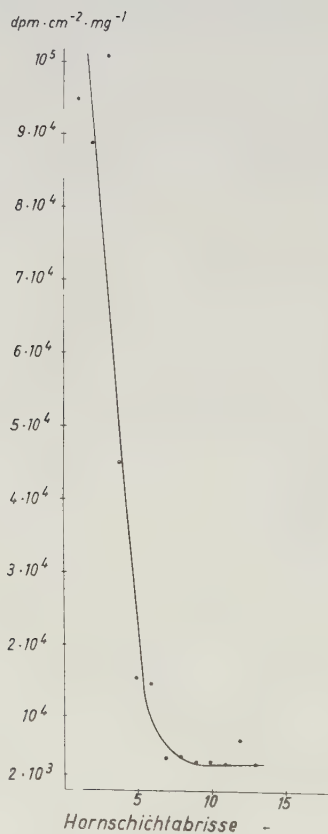
Das am Tesafilm anhaftende Hornschichtgewebe (mg) nach lokaler Applikation von Fluorofomylon im Vehikel wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe (Penetrationszeit 100 min).

Abbildung 35



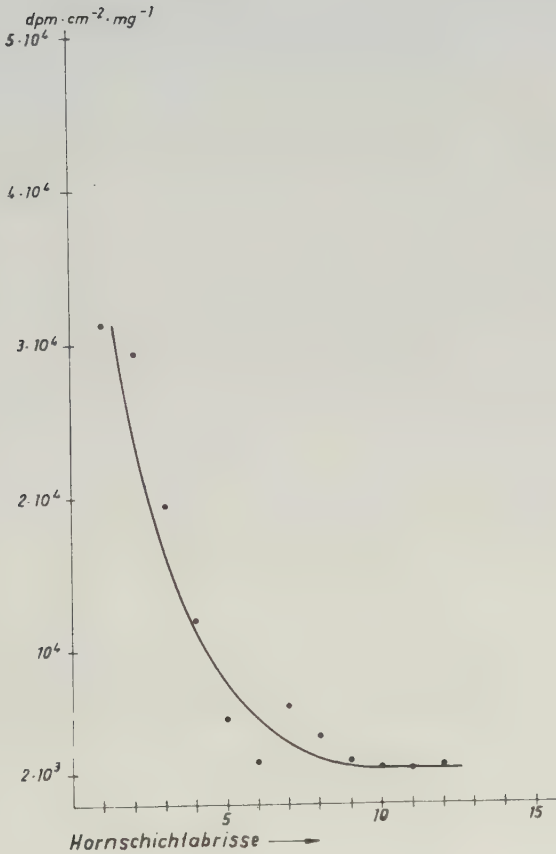
Wiedergefundene Aktivität berechnet auf 1 mg des dem Tesafilms anhaftenden Hornschichtgewebes bezogen auf 1 cm² Hautoberfläche nach lokaler Applikation von Fluorofomylon im Vehikel wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe (Penetrationszeit 100 min).

Abbildung 36



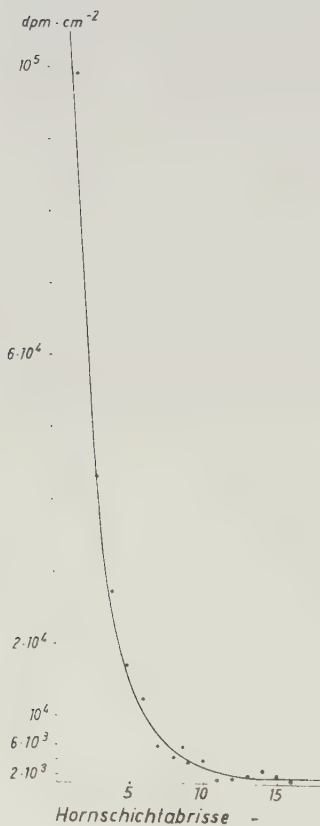
Wiedergefundene Aktivität berechnet auf 1 mg des dem Tesafilm anhaftenden Hornschichtgewebes bezogen auf 1 cm^2 Hautoberfläche nach lokaler Applikation von Fluorofomylon im Vehikel wasserhaltige hydrophile Salbe (Penetrationszeit 100 min).

Abbildung 37



Wiedergefundene Aktivität berechnet auf 1 mg des dem Tesafilm anhaftenden Hornschichtgewebes bezogen auf 1 cm² Hautoberfläche nach lokaler Applikation von Fluorofomylon im Vehikel Polyäthylenglykolsalbe (Penetrationszeit 100 min)

Abbildung 38



Absolute Aktivität der an jedem Hornschichtabrisß anhaftenden Gewebemenge pro cm^2 Hautoberfläche nach lokaler Applikation von Fluorofomylon im Vehikel wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe (Penetrationszeit 100 min).

Lebenslauf

Am 14. Dezember 1948 wurde ich, Wolf-Dieter Hoffmann, als Sohn des Arztes Dr. Hans-Joachim Hoffmann und seiner Ehefrau Christa in Berlin geboren. Ich bin evangelischen Bekenntnisses und deutscher Staatsangehörigkeit.

Das Abitur mit dem Nachweis des großen Latinums legte ich nach 13 Schuljahren am 27. Februar 1968 an der 1. Oberschule wissenschaftlichen Zweiges zu Berlin-Reinickendorf ab.

Am 24.5.1968 wurde ich zum Sommersemester 1968 an der medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin immatrikuliert. Hier bestand ich am 10. 3. 1969 (nach dem 2. Semester) die naturwissenschaftliche Vorprüfung und am 3. 9. 1970 (nach dem 5. Semester) die ärztliche Vorprüfung.

Während der klinischen Ausbildung famulierte ich insgesamt 6 Monate auf inneren Stationen, davon 2 Monate am Städt. Humboldt-Krankenhaus, Berlin und 4 Monate am Highland View Hospital in Cleveland, Ohio. Auch die vorliegende Dissertation fertigte ich während des klinischen Studiums an. Nach 7 klinischen Fachsemestern (und einem Urlaubssemester) meldete ich mich zu der am 15. August 1974 beginnenden Prüfungsperiode zur ärztlichen Prüfung an und bestand das Staatsexamen am 8. März 1975.

